

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología I



**FARMACOCINÉTICA Y FARMACOGENÉTICA
DE LA RIBAVIRINA EN LA RESPUESTA AL
TRATAMIENTO DE PACIENTES COINFECTADOS
VIH-VHC.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Judit Moreno Bullón

Bajo la dirección de los doctores

Sonia Rodríguez Nóvoa
Vicente Soriano Vázquez

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-2810-8

© Judit Moreno Bullón, 2010



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología I

**FARMACOCINÉTICA Y FARMACOGENÉTICA DE LA
RIBAVIRINA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO
DE PACIENTES COINFECTADOS VIH/VHC**

TESIS DOCTORAL

Judit Morello Bullón

Madrid, 2010

Tesis Doctoral

FARMACOCINÉTICA Y FARMACOGENÉTICA DE LA RIBAVIRINA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE PACIENTES COINFECTADOS VIH/VHC

Esta memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctora en Microbiología Médica por la Universidad Complutense de Madrid por la licenciada:

Judit Morello Bullón

Directores de la Tesis:

Dra. Sonia Rodríguez Nóvoa

Doctora en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biología Molecular. Servicio de Enfermedades Infecciosas.

Hospital Carlos III. Madrid.

Dr. Vicente Soriano Vázquez

Doctor en Medicina. Servicio de Enfermedades Infecciosas

Hospital Carlos III. Madrid

VºBº de los Directores de la Tesis:

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que quiero agradecer el apoyo y la ayuda que me han prestado durante estos cuatro años de tesis.

A los Dres. Juan González-Lahoz y Vicente Soriano, por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis y haber confiado en mí para este proyecto.

A mi directora de tesis, la Dra. Sonia Rodríguez-Nóvoa, por enseñarme, guiarme y ayudarme durante estos cuatro años.

A la Dra. Inmaculada Jiménez, porque fue la primera persona que apostó por mí para este proyecto.

Al Dr. José Miguel Benito, por las numerosas horas empleadas en ayudarme con la citometría de flujo y la P-gp.

A Gema González-Pardo y Lorena Cuenca, mis grandes apoyos en el laboratorio, por su inestimable y constante ayuda tanto a nivel profesional como personal. Sin ellas no habría podido realizar este “Post-it”.

A Elena Álvarez, por el apoyo que me ha ofrecido en todo momento y por su incondicional amistad.

A los Dres. Carmen de Mendoza, Eva Poveda, Lourdes Anta, Berta Rodés y Antonio Madejón, por las ideas y conocimientos que me han aportado.

A mis compañeros más cercanos del Laboratorio de Biología Molecular: Norma Ibón Rallón, María Salgado, Carolina Garrido, María de la O López, Alejandra Peris, Marcelle Bottechia, Clara Restrepo, Ana Treviño, Eduardo Seclén y Miguel Arredondo, por su amistad.

A los técnicos: Angélica Corral, Natalia Zahonero, Marta Sánchez, Mar González, Mariana Lapaz, Bea Sanz y Patricia Parra, por su indispensable labor profesional.

Al equipo clínico del Servicio de Enfermedades Infecciosas: José Medrano, Eugenia Vispo, Pablo Barreiro, Paco Blanco, Pablo Labarga, Luz Martín-Carbonero, Pablo Rivas, Lola Herrero, Carlos Sánchez y José Vicente, por su constante apoyo profesional.

Al equipo del Servicio de Farmacia: Susana de Andrés, José Luis Valdeolmos, Reme Manchón, Antonia Cano, Andrea Gallego, Inmaculada Ramos, Ana Álvarez, Carmen Fernández, Carmina Rupérez, Candelas Santamaría y Victoria Cuervo.

A Maite, Esther, Ernesto y Gloria, por estar siempre ahí, tanto en los buenos como en los malos momentos.

Y en especial, quisiera dedicar esta tesis a mi familia. A mis padres, mi hermana Sara y mi tía Firma, por quererme, apoyarme y ayudarme en todo momento. Muchas gracias por formar parte de mi vida.

ÍNDICE

1	RESUMEN	1
2	INTRODUCCIÓN	5
2.1	El virus de la Hepatitis C	7
2.1.1	Estructura	7
2.1.2	Ciclo infeccioso.....	9
2.1.3	Variabilidad genética. Genotipos, subtipos y cuasiespecies.....	11
2.2	Epidemiología e historia natural de la infección VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC	12
2.2.1	Epidemiología de la coinfección	12
2.2.2	Historia natural de la infección VHC	14
2.3	Tratamiento de la hepatitis C en pacientes coinfectados VIH/VHC.....	17
2.3.1	Objetivos del tratamiento y fármacos empleados	17
2.3.2	Cinética viral y respuesta virológica al tratamiento	25
2.3.3	Efectos adversos del tratamiento.....	27
2.4	Factores predictores de respuesta virológica en pacientes coinfectados VIH/VHC	28
2.4.1	Monitorización de Concentraciones Plasmáticas.....	34
2.4.2	Factores farmacogenéticos	40
3	OBJETIVOS	51
4	PACIENTES Y MÉTODOS	55
4.1	Pacientes	57
4.2	Parámetros farmacodinámicos.....	58
4.3	Parámetros farmacocinéticos	59
4.4	Parámetros farmacogenéticos	62

4.5	Otros parámetros clínicos	65
4.6	Análisis estadísticos	67
5	RESULTADOS	69
5.1	Estudio 1: Estudio de la asociación entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina y la recidiva al tratamiento del VHC	71
5.2	Estudio 2: Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos en el gen del transportador de la Ribavirina ENT1 (SL29A1) y la respuesta al tratamiento del VHC	83
6	DISCUSIÓN	103
7	CONCLUSIONES	119
8	BIBLIOGRAFÍA	123
9	ANEXOS	145
10	ABREVIATURAS	151

1 RESUMEN

Aproximadamente, una cuarta parte de los individuos con VIH están coinfectados por el virus de la hepatitis C (VHC). Actualmente, el único tratamiento disponible contra el VHC es la combinación de peginterferón (pegIFN) y ribavirina (RBV). Dicho tratamiento es costoso, no se tolera bien, y, de forma global, cura a menos del 50% de los pacientes coinfectados VIH/VHC. Por tanto, es imprescindible conocer los factores que van a predecir la respuesta virológica a fin de optimizar el éxito terapéutico.

Las concentraciones plasmáticas de RBV se han asociado con la respuesta virológica en numerosos estudios. Sin embargo, se desconoce su impacto en la recidiva al tratamiento del VHC. Por otro lado, la mayoría de los mecanismos antivirales de la RBV requieren la entrada de la RBV al interior de los hepatocitos, fundamentalmente, a través del transportador equilibrativo de nucleósidos 1 (ENT1). Polimorfismos (SNPs) en el gen ENT1 (*SLC29A1*) podrían afectar la actividad de ENT1, y, por tanto, afectar las concentraciones de RBV intrahepáticas y la actividad antiviral de la RBV.

En este trabajo se investiga el impacto de las concentraciones plasmáticas de RBV en la recidiva del VHC y la influencia de SNPs en el gen *SLC29A1* en la respuesta virológica al tratamiento del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC. Los resultados obtenidos demuestran que, además de los factores clásicos como el genotipo viral y la carga viral basal, las concentraciones plasmáticas de RBV y SNPs en el gen *SLC29A1* predicen la respuesta virológica al tratamiento del VHC. Los pacientes con concentraciones plasmáticas de RBV < 2,5 µg/mL tuvieron más de 4 veces aumentado el riesgo de recidivar. Por otro lado, los pacientes con genotipos virales 1 ó 4 portadores del genotipo GG del SNP rs760370A>G en el gen *SLC29A1*, tuvieron más de 15 veces incrementada su probabilidad de alcanzar respuesta virológica rápida.

En resumen, estos resultados apuntan que la adición de factores farmacocinéticos y farmacogenéticos puede ser de gran utilidad para la optimización del tratamiento con pegIFN y RBV en pacientes coinfectados VIH/VHC.

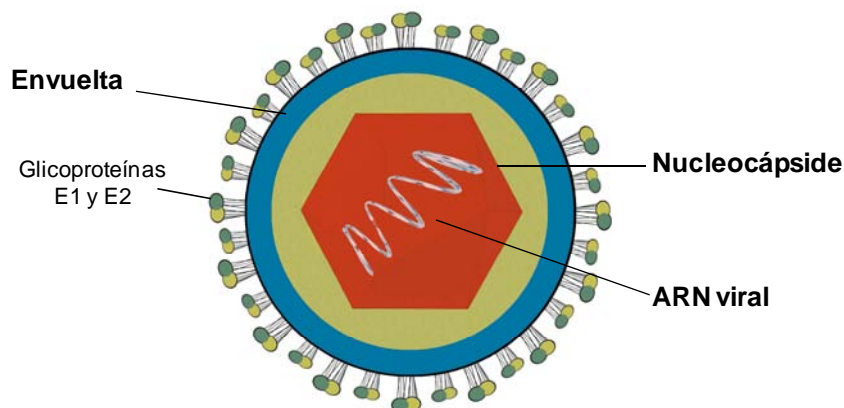
2 INTRODUCCIÓN

2.1 El virus de la Hepatitis C

2.1.1 Estructura

El Virus de la hepatitis C (VHC) es un virus hepatotrópico que pertenece a la familia Flaviviridae, género *Hepacivirus* (Choo *et al.* 1989). Morfológicamente, el VHC es una partícula esférica de 50-60 nm de diámetro. Estructuralmente, el VHC consta de una envuelta lipoproteica, en la que se insertan las glicoproteínas de la envuelta E1 y E2, y una nucleocápside constituida por la proteína del core que encierra el genoma viral (**Figura 1**) (revisado por Dustin *et al.* 2007).

Figura 1. Estructura del virus de la hepatitis C.



El genoma del VHC es una molécula monocatenaria de ARN de polaridad positiva de aproximadamente 9.600 nucleótidos. El genoma está flanqueado por las regiones no codificantes en los extremos 5' y 3' (UTRs), esenciales porque participan en la regulación de la replicación viral. Por esta razón, las regiones UTR presentan un alto nivel de conservación de secuencia y/o estructuras secundarias entre los diferentes aislados. El genoma del VHC presenta un único marco de lectura abierto, que codifica para una sola

poliproteína precursora de aproximadamente 3.000 aminoácidos, con ligeras variaciones dependiendo del genotipo viral. Las proteínas virales, tanto de tipo estructural como no estructural, son el resultado del procesamiento de la poliproteína por proteasas virales y celulares (**Figura 2**) (revisado por Dustin *et al.* 2007). La **Tabla 1** presenta las proteínas virales y sus principales funciones.

Figura 2. Estructura y organización genómica del VHC (adaptado de Dustin *et al.* 2007).

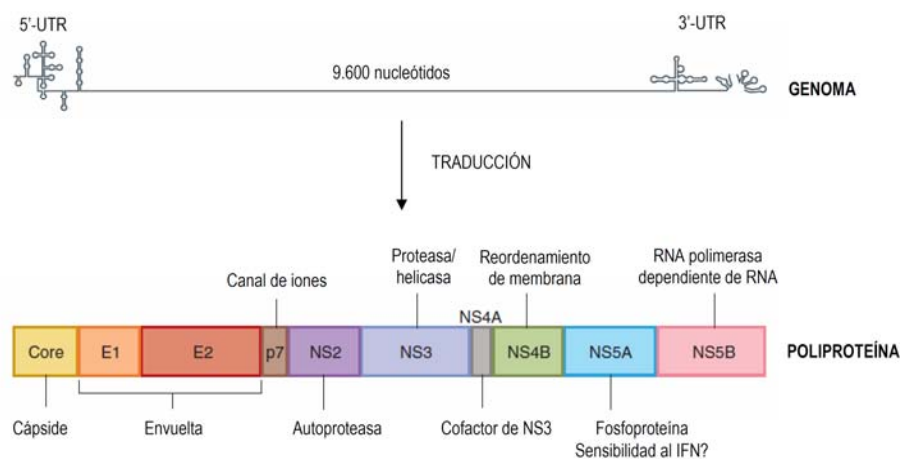
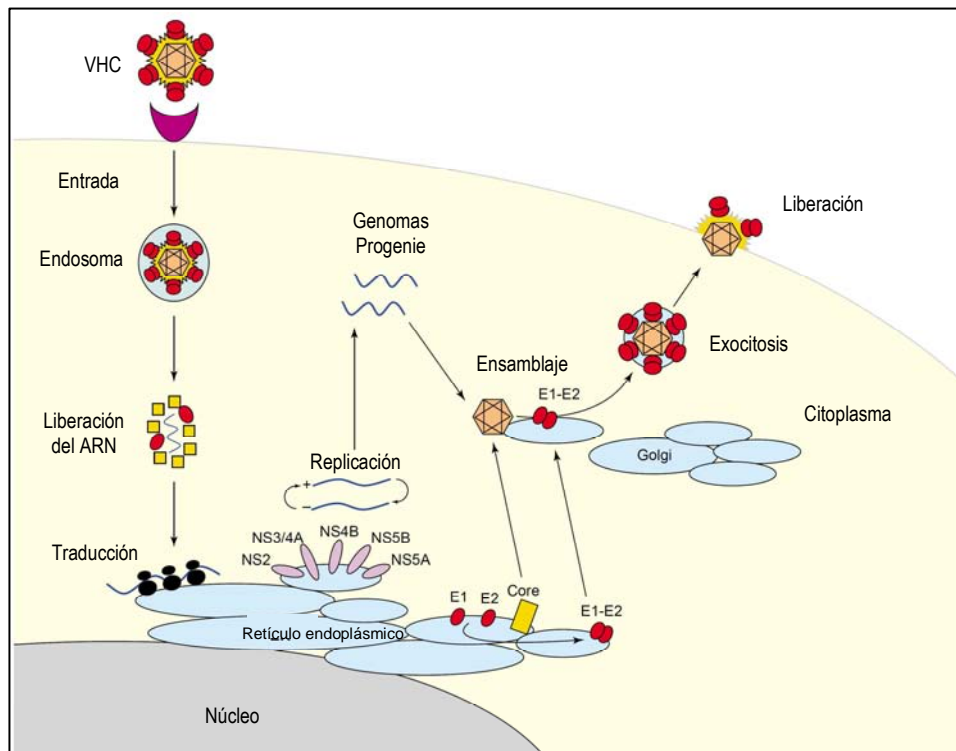


Tabla 1. Proteínas virales del VHC.

Proteína	Función biológica
Core	Proteína estructural (nucleocápside). Encapsidación del ARN viral.
E1	Proteína estructural (glicoproteína envuelta). Entrada celular.
E2	Proteína estructural (glicoproteína envuelta). Entrada celular.
p7	Proteína estructural (canal de iones). Ensamblaje y liberación viral.
NS2	Proteína no estructural. Procesamiento poliproteína viral. Ensamblaje viral. Forma parte del complejo de replicación.
NS3	Proteína no estructural. Actividad serin-proteasa en procesamiento poliproteína viral. Actividad ATPasa helicasa en replicación ARN viral.
NS4A	Proteína no estructural. Co-factor serin-proteasa NS3.
NS4B	Proteína no estructural. Modifica las membranas del retículo endoplásmico para formar el complejo de replicación.
NS5A	Proteína no estructural. Modifica la sensibilidad al IFN. Forma parte del complejo de replicación.
NS5B	Proteína no estructural. ARN polimerasa ARN-dependiente responsable de la replicación del ARN viral.

2.1.2 Ciclo infectivo

La replicación del VHC se puede dividir en las siguientes etapas que aparecen resumidas en la **Figura 3**. 1) Entrada viral. Se desconoce el mecanismo de entrada del virus, pero se ha comprobado que las proteínas de la envuelta E2 y/o E1 interaccionan con varios receptores celulares como CD81 y SR-B1. 2) Liberación del ARN viral al citoplasma. 3) Traducción del ARN viral mediada por el sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) de la región 5'UTR. 4) Procesamiento de la poliproteína por proteasas celulares y virales. Las proteínas virales no estructurales se quedan fuertemente unidas a membranas del retículo endoplásmico formando el complejo de replicación asociado a membranas. 5) Replicación del ARN viral. La cadena positiva de ARN-VHC se utiliza como molde para la síntesis de la cadena negativa, que servirá como molde para la síntesis de las nuevas cadenas positivas de ARN. 6) Ensamblaje y encapsidación. Las nuevas cadenas positivas de ARN viral interaccionan con las proteínas del core formando la nucleocápside, que adquirirá su envuelta en la luz del retículo endoplásmico. 7) Maduración del virión. 8) Liberación. Se cree que los viriones son exportados fuera de la célula a través de los sistemas de excreción celulares (revisado por Racanelli *et al.* 2003; Penin *et al.* 2004).

Figura 3. Ciclo de replicación del VHC (adaptado de Racanelli *et al.* 2003).

El genoma del VHC no se integra en el núcleo celular y todo su ciclo se realiza en el citoplasma del hepatocito. Este aspecto es de crucial importancia, ya que, a diferencia de los virus del VIH y de la hepatitis B (VHB), el VHC no presenta formas de reservorio estable de infección de tipo provirus o episomal (revisado por Soriano *et al.* 2008). Una de las consecuencias de este hecho es que la vida media del ARN del VHC en la célula es muy corta ($\sim 1,5$ h), lo que obliga a que el VHC tenga una alta tasa de producción viral para poder mantener la infección de forma persistente (Guo *et al.* 2001). Por otro lado, a diferencia del VIH y VHB, la ausencia de reservorios estables del VHC posibilita la erradicación total del VHC si se utilizan terapias que producen una enérgica inhibición de la replicación viral (Maylin *et al.* 2009) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Principales diferencias de la dinámica viral del VIH, VHC y VHB (adaptado de Soriano *et al.* 2008).

	VIH	VHC	VHB
Virus			
Producción viriones/día	10^{10}	10^{12}	10^{12} - 10^{13}
$t_{1/2}$ viriones libres (h)	1	2-3	3-24
$t_{1/2}$ viriones intracelulares (h)	días (depende del $t_{1/2}$ células infectadas)	horas (no depende del $t_{1/2}$ células infectadas)	meses (depende del $t_{1/2}$ células infectadas)
Tasa de mutación	muy alta	muy alta	alta
Célula diana			
$t_{1/2}$ células infectadas (h)	días	semanas	meses
Reservorio intracelular	Sí (ADNc integrado)	No	Sí (ADNccc)

$t_{1/2}$, tiempo de semivida; ADNc, ADN complementario; ADNccc, ADN circular covalentemente cerrado.

2.1.3 Variabilidad genética. Genotipos, subtipos y cuasiespecies

Como en el caso de otros virus ARN, el VHC posee una gran heterogeneidad genética como resultado de la elevada tasa de producción diaria de viriones y la alta tasa de mutaciones debida a la falta de función correctora de errores de la ARN polimerasa viral (Neumann *et al.* 1998). Las regiones no codificantes del genoma viral se encuentran relativamente conservadas, mientras que las de la envuelta, especialmente la región hipervariable RHV1 de la región E2, tienen las tasas de mutación más altas (Polyak *et al.* 1997).

Dentro del VHC existen distintos niveles de variabilidad genética: genotipos, subtipos y cuasiespecies. El sistema de clasificación actualmente aceptado es el propuesto por Simmonds, donde el VHC se clasifica en 6 genotipos (del 1 al 6), con homologías del 60-70%, y dentro de cada uno de éstos, en subtipos, con homologías del 78-88% (Simmonds *et al.* 1993). Además, en un individuo infectado, el ARN del VHC no está presente como una secuencia única, sino

como un conjunto de secuencias muy parecidas agrupadas alrededor de una secuencia mayoritaria, lo que se conoce como cuasiespecie viral. Estas variantes son generadas como resultado de las sustituciones de nucleótidos que realiza la ARN polimerasa viral en cada ciclo de replicación (teóricamente, cada uno de los 9.600 nucleótidos del genoma del VHC pueden ser sustituidos cada día en un determinado paciente). Una de las consecuencias más importantes de la gran variabilidad genética del VHC es que prácticamente todas las mutaciones primarias de resistencia pueden considerarse como preexistentes en la población viral basal. Así, bajo presión de un determinado fármaco antiviral, pueden seleccionarse las variantes virales con una menor susceptibilidad al mismo y llegar a constituirse como población mayoritaria en el huésped, produciendo así resistencia a ese determinado fármaco. Además, en el caso del VHC, la velocidad de selección de resistencias va a ser especialmente rápida debido a la continua y alta producción de moléculas de ARN viral (Rong *et al.* 2010).

2.2 Epidemiología e historia natural de la infección VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC

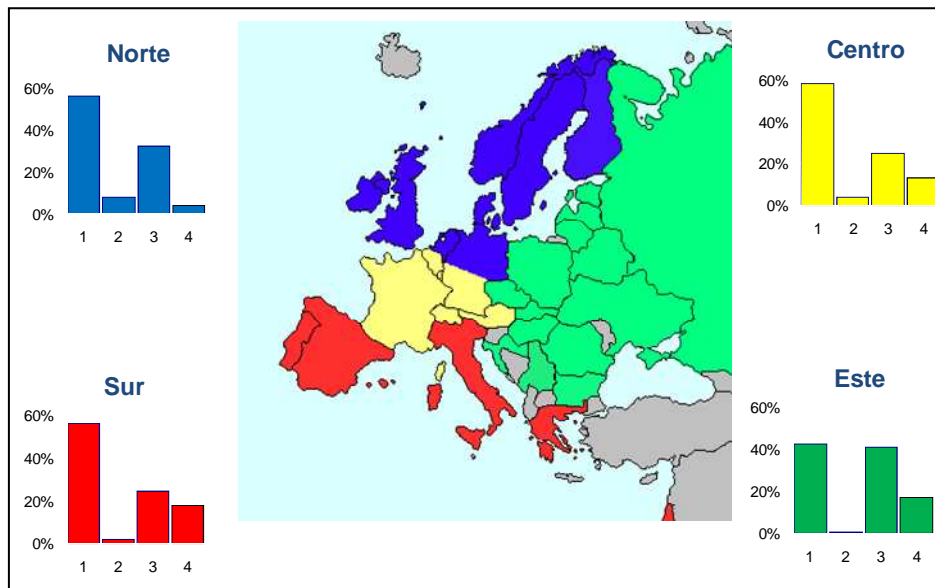
2.2.1 Epidemiología de la coinfección

El VIH y el VHC comparten vías de transmisión, por lo que es frecuente la coinfección por ambos virus, sobre todo en colectivos que se infectan por vía sanguínea como los adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) o hemofílicos (Winnock *et al.* 2004). Sin embargo, la transmisión del VHC por vía sexual o perinatal es escasa. Esto hace que la prevalencia de la coinfección VIH/VHC

varíe según el grupo de riesgo y la región geográfica. En lugares donde la principal vía de transmisión ha sido el consumo intravenoso de drogas, como el sur y este de Europa o el sudeste de China, hasta tres cuartas partes de los pacientes VIH+ están también infectados por VHC (Rockstroh *et al.* 2005). Al contrario, en África o la India, donde la principal vía de contagio es la heterosexual, la prevalencia de la coinfección está por debajo del 5% (Modi *et al.* 2007). Por último, en regiones donde el VIH está representado sobre todo por varones homosexuales como EEUU o Europa central y del norte, la prevalencia es intermedia, en torno al 10%, probablemente como consecuencia del mayor riesgo de relaciones sexuales traumáticas en este colectivo (Rauch *et al.* 2005; Danta *et al.* 2007).

En cuanto a la prevalencia de los genotipos virales, según datos de la cohorte europea EUROSIDA, mientras que el genotipo 1 predomina en toda Europa, el genotipo 3 es más frecuente en Europa del Este. El genotipo 2 es, en general, poco frecuente y confinado a países del Norte y Centro de Europa. El genotipo 4 predomina en países del norte de África; y en Europa es más frecuente en países del sur (Soriano *et al.* 2008) **(Figura 4)**.

Figura 4. Distribución de los genotipos del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC en Europa (adaptado de Soriano *et al.* 2008).



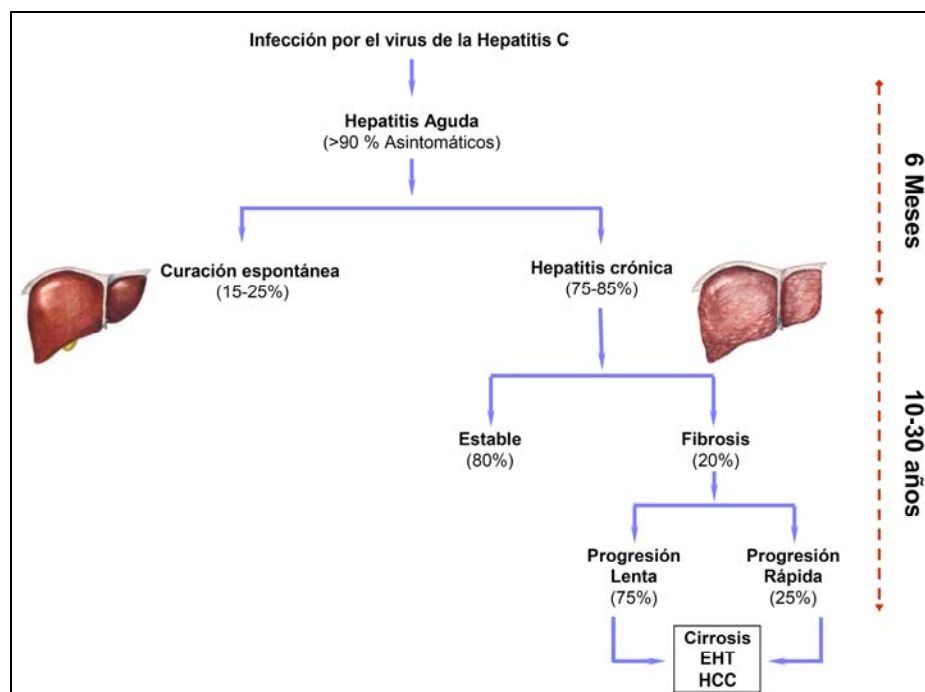
2.2.2 Historia natural de la infección VHC

Tras una infección aguda por VHC, hasta un tercio de los pacientes VIH- logrará curar la hepatitis C de forma espontánea. La curación espontánea se ha asociado con menor edad, sexo femenino, genotipo 3, raza blanca, hepatitis aguda sintomática y determinados polimorfismos genéticos a nivel de los genes que codifican para el antígeno HLA, citoquinas como la IL28B y diversas proteínas activadas por el IFN-alfa (revisado por Rauch *et al.* 2009).

En pacientes VIH+, debido a la depleción de linfocitos T CD4+ y a la pérdida de la respuesta inmune específica frente al VHC, la tasa de curación espontánea es mucho menor y la cronificación se produce hasta en un 80% de los pacientes (Soriano *et al.* 2010). La cronificación de la infección lleva a la acumulación de proteínas de la matriz extracelular (fibrogénesis), que acaba alterando la arquitectura hepática. El estadio final de la fibrosis es la cirrosis, caracterizada por la aparición de nódulos de regeneración. Una vez establecida

la cirrosis, se deterioran las funciones hepatocelulares y se produce un aumento en la resistencia hepática al flujo sanguíneo, provocando hipertensión portal, que va a ser la responsable de las principales complicaciones de la enfermedad hepática terminal. Cuando la cirrosis está establecida, la progresión a fracaso hepático o hepatocarcinoma oscila entre un 2-4% y un 1-3% anual, respectivamente (**Figura 5**).

Figura 5. Historia natural de la infección por el VHC.



EHT: enfermedad hepática terminal; HCC: hepatocarcinoma.

La enfermedad hepática inducida por el VHC incluye diferentes lesiones del parénquima hepático, entre las que se incluyen inflamación, necrosis, fibrosis y finalmente cirrosis. Los mecanismos implicados en la patogenia de estas lesiones son complejos y pueden ser tanto de tipo directo, mediados por proteínas virales, o indirecto, mediados por el sistema inmune. Por parte del virus, uno de los principales mecanismos implicados en el desarrollo de la inflamación hepática es el estrés oxidativo inducido a nivel de las mitocondrias

por proteínas virales como las proteínas del core (Okuda *et al.* 2002; Shin *et al.* 2005). Por parte del sistema inmune, hay que tener en cuenta que la infección VHC no sólo ocurre en los hepatocitos, sino también en células linfoides como las células dendríticas. Por tanto, la infección VHC produce determinadas alteraciones en el sistema inmune que resultan en una respuesta ineficiente de células T específicas y células NK, responsables de la persistencia de la infección VHC y de la inflamación hepática crónica (Tanikawa 2004).

El VIH acelera la historia natural de la infección por VHC (Graham *et al.* 2001). Los pacientes coinfectados VIH/VHC desarrollan antes cirrosis y en edades más tempranas, tienen un peor pronóstico una vez establecida la cirrosis y un mayor riesgo de muerte y desarrollo de hepatocarcinoma. Los mecanismos por los que el VIH acelera la progresión de la enfermedad por VHC no son bien conocidos. En los pacientes VIH+, se observan cargas virales VHC más elevadas (Cribier *et al.* 1997; Daar *et al.* 2001) y la respuesta inmune específica frente al VHC está disminuida con respecto a pacientes mono infectados VHC (Dutoit *et al.* 2005). Además, el hecho de que exista una disminución de los linfocitos T CD4+ intrahepáticos que secretan citoquinas antiinflamatorias y antifibróticas (FOXP3, IL10) y la posibilidad de infección de las células estrelladas hepáticas por el VIH, podría contribuir a ello.

La evolución de la enfermedad por VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC va a depender de factores relacionados con ambos virus, con el huésped y con el tratamiento antirretroviral. Entre los factores dependientes del paciente se encuentran presentar transaminasas persistentemente elevadas, bajo recuento

de linfocitos CD4+, consumo de alcohol, edad más avanzada, sexo masculino, coinfección con otras hepatitis virales, esteatosis hepática, obesidad, diabetes, hepatotoxicidad, síndrome metabólico y determinadas variantes genéticas (Martin-Carbonero *et al.* 2004; Barreiro *et al.* 2006; Jonsson *et al.* 2008; Marcolongo *et al.* 2009). Con respecto al VHC, existe controversia sobre la correlación entre factores virales y la progresión a cirrosis. En general, ni el genotipo ni la carga viral parecen relacionarse con la velocidad de progresión de la fibrosis. Sin embargo, el genotipo 3 se relaciona con mayor probabilidad de esteatosis hepática y transaminasas elevadas, acelerando así el daño hepático (Barreiro *et al.* 2006). Por último, los efectos del TARGA sobre la progresión de la enfermedad hepática son duales. Por un lado, el TARGA tiene un efecto beneficioso al controlar del VIH y mejorar la recuperación inmunológica (Pineda *et al.* 2007), pero por otro lado, puede tener un efecto negativo por la hepatotoxicidad y alteraciones metabólicas asociadas a los antirretrovirales (revisado por Soriano *et al.* 2008).

2.3 Tratamiento de la hepatitis C en pacientes coinfectados VIH/VHC

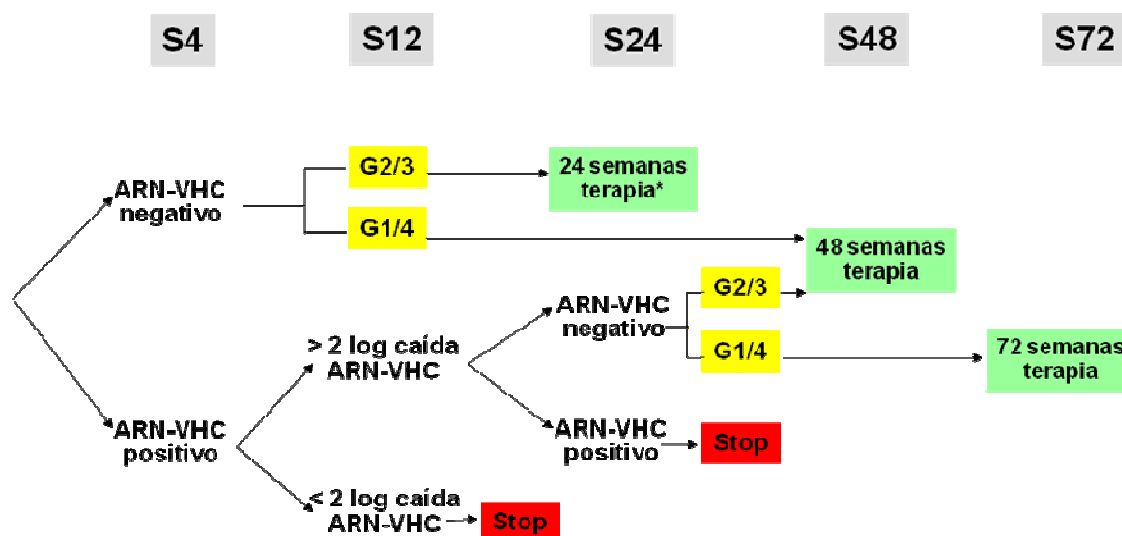
2.3.1 Objetivos del tratamiento y fármacos empleados

Los objetivos del tratamiento del VHC son erradicar la infección y mejorar el grado de fibrosis e inflamación hepática (Soriano *et al.* 2010).

El tratamiento actual de la infección crónica por VHC consiste en la combinación de interferón-alfa pegilado (pegIFN-alfa) y ribavirina (RBV). La

dosis de pegIFN es de 180 µg/semana con pegIFN-alfa 2a o 1.5 µg/kg/semana con pegIFN-alfa 2b. La dosis de RBV depende del peso corporal, siendo de 1000 mg/día si el paciente pesa < 75 kg y de 1200 mg/día si el peso es > 75 kg. La recomendación actual sobre la duración del tratamiento en pacientes coinfectados VIH/VHC es de 48 semanas, independientemente del genotipo viral. Sin embargo, se ha propuesto un algoritmo, basado en el genotipo viral y la cinética viral inicial, para optimizar la duración de la terapia, que iría desde 24 a 72 semanas (Rockstroh *et al.* 2008) (**Figura 6**).

Figura 6. Algoritmo de optimización de la duración del tratamiento del VHC propuesto para pacientes coinfectados VIH/VHC (adaptado de *Rockstroh et al.* 2008).



*En pacientes con baja carga viral basal y mínima fibrosis.

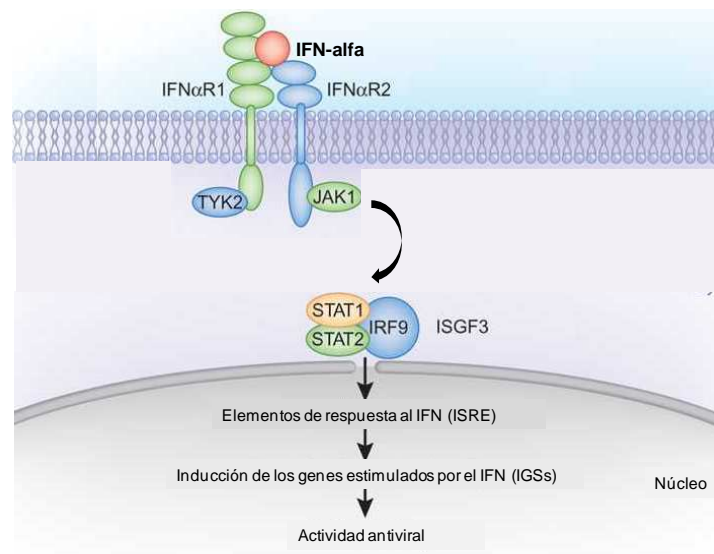
A continuación, se describen las principales características farmacodinámicas y farmacocinéticas de pegIFN-alfa y RBV.

Interferón-alfa

Farmacodinámica. El IFN-alfa tiene actividades antiproliferativas, antivirales e inmunomoduladoras (Pestka 2000). El IFN-alfa se une a su

receptor celular formado por 2 subunidades (IFNAR1 e IFNAR2), lo que conduce a la dimerización de IFNAR1 e IFNAR2 y a la activación (fosforilación) de las tirosinas kinasas asociadas al receptor del IFN-alfa, que son JAK1 y Tyk2. Una vez activadas, JAK1 y Tyk2 fosforilan IFNAR1 e IFNAR2, lo que permite la unión de señales de transducción y activación de factores de transcripción como STAT1 y STAT2 al receptor del IFN-alfa y posterior fosforilación por JAK1 o Tyk2. STAT1 y STAT2 activados son liberados al citosol, donde forman heterodímeros y se unen al factor regulador del IFN 9 (IRF9) para formar un factor de transcripción conocido como factor 3 de estimulación de los genes del interferón (ISGF3). Este complejo es trasladado al núcleo, donde se une a los elementos de respuesta a la estimulación por el IFN (ISRE), que inician la transcripción de los genes estimulados por el IFN (ISGs) (Pestka 2000; Castet *et al.* 2002; Radaeva *et al.* 2002; Ji *et al.* 2003) **(Figura 7)**. Algunas de las proteínas con actividad antiviral derivadas de la transcripción de los ISGs son la proteína kinasa dependiente de RNA (PKR), la proteína 1 de resistencia a myxovirus (MxA) y la 2',5'-oligoadenilato sintetasa (OAS).

Además de sus acciones antivirales, el IFN-alfa tiene una importante actividad a nivel de la respuesta inmune innata y adaptativa, ya que promueve la proliferación de células T de memoria, previene la apoptosis de células T y estimula la activación de células NK y la maduración de células dendríticas.

Figura 7. Mecanismo de acción del IFN-alfa.

- **Farmacocinética.** El pegIFN-alfa se obtiene por conjugación de una molécula de polietilenglicol (PEG) e IFN-alfa. De esta forma, se consigue aumentar la estabilidad del IFN-alfa, con lo que se retarda su absorción y se disminuye su proteólisis y aclaramiento renal. Se dispone de dos preparados: pegIFN-alfa 2a y pegIFN-alfa 2b. El pegIFN-alfa 2a está unido a una molécula de PEG ramificada de 40 kD, mientras que el pegIFN-alfa 2b lo hace a una molécula de PEG lineal de 12 kD. Estas diferencias estructurales justifican las diferencias farmacocinéticas que existen entre ellos (Foster 2010) (**Tabla 3**). La vía renal juega un papel muy importante en la eliminación de ambos pegIFN-alfa, por lo que pacientes con insuficiencia renal, pueden requerir una disminución de dosis debido al aumento de las concentraciones plasmáticas de IFN-alfa.

Tabla 3. Parámetros farmacocinéticos del pegIFN-alfa 2a y pegIFN-alfa 2b.

	Vd (L/Kg)	t _{1/2} (h)
pegIFN-alfa 2a	8	80
pegIFN-alfa 2b	20	40

Vd, volumen aparente de distribución; t_{1/2}, tiempo de semivida de eliminación.

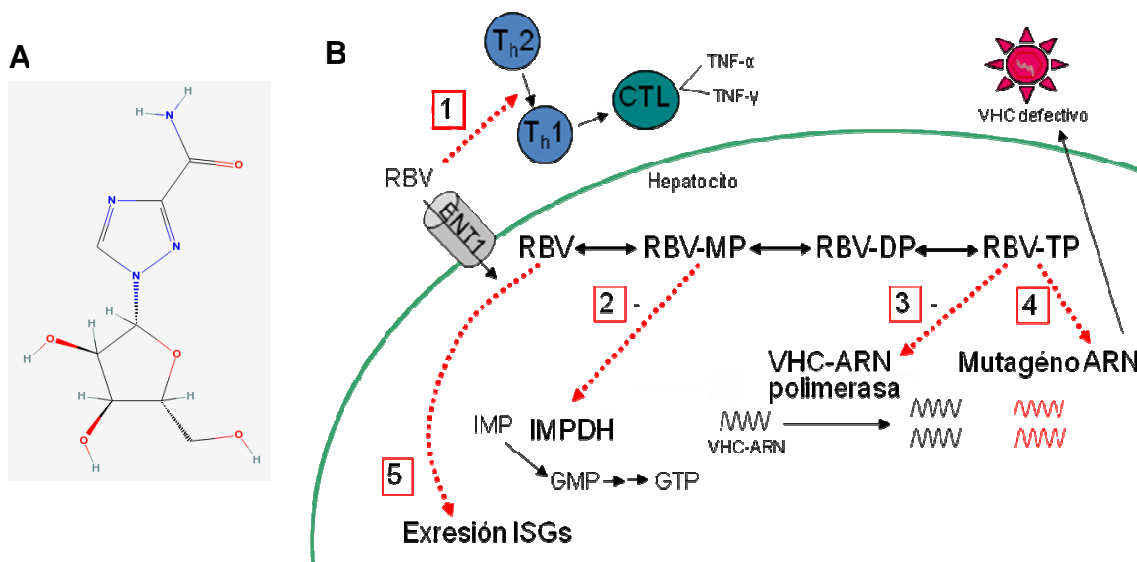
Ribavirina

- **Farmacodinámica.** La ribavirina (1-beta-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida) es un análogo sintético de la guanosina con mínima o nula actividad antiviral frente al VHC en monoterapia; sin embargo, en combinación con IFN-alfa es esencial para lograr una adecuada tasa de respuesta virológica sostenida (McHutchison *et al.* 1998; Poynard *et al.* 1998; Manns *et al.* 2001; Fried *et al.* 2002). No se sabe cómo la RBV aumenta la respuesta del IFN-alfa, pero se han propuesto varios mecanismos de acción: inhibición de la inosina-monofosfato deshidrogenasa (IMDPH), inhibición directa de la ARN polimerasa del VHC, hipermutagénesis, inducción de los ISGs y un efecto inmunomodulador (Feld *et al.* 2005; Dixit *et al.* 2006; Hofmann *et al.* 2008; Feld *et al.* 2010) (**Figura 8**).

Al menos, cuatro de los cinco mecanismos antivirales propuestos, requieren la entrada de la RBV al interior de los hepatocitos. La RBV es una molécula polar (ácido débil) y por ello, necesita una proteína transportadora para atravesar las membranas celulares. Esta función de transporte es llevada a cabo por los transportadores de nucleósidos. En el interior de los hepatocitos, la RBV es fosforilada a sus formas monofosfato (RBP-MP), bifosfato y trifosfato (RBV-TP). La forma RBV-MP inhibe a la IMPDH por competición con la inosina monofosfato, lo

que lleva a una depleción de GTP, necesaria para la síntesis del ARN viral. La forma RBV-TP se incorpora en la cadena nascente del ARN viral, lo que podría llevar a la terminación temprana de la síntesis de la cadena y a una inhibición de la replicación viral. Por otro lado, la forma RBV-TP puede actuar como un agente mutagénico incrementando la frecuencia de mutaciones y llevando así al virus a la denominada catástrofe de error, con la consiguiente producción de partículas virales defectivas. La RBV también interacciona a nivel de la vía de señalización del IFN, favoreciendo la unión de STAT1 al ADN e induciendo la expresión de los ISGs. Por último, se ha propuesto una acción inmunomoduladora de la RBV. La RBV podría alterar el balance T_H1/T_H2 favoreciendo la respuesta T_H1 y, por tanto, el aclaramiento del virus.

Figura 8. Estructura química de la RBV (A) y mecanismos de acción propuestos para la actividad antiviral de la RBV (B).



- **Farmacocinética.** Tras la administración de una dosis única de RBV, el perfil de las concentraciones plasmáticas de RBV se puede dividir en 3 fases correspondientes a una primera fase rápida de absorción seguida de una rápida fase de distribución y una fase prolongada de eliminación (**Tabla 4**). La RBV tiene una biodisponibilidad baja por el efecto de primer paso. No se une a proteínas plasmáticas y tiene un volumen aparente de distribución muy elevado debido a su extensiva acumulación en glóbulos rojos (cociente sangre total: plasma = 60:1). La RBV se distribuye lentamente a líquido cefalorraquídeo, donde alcanza unas concentraciones que son el 70% de las plasmáticas. Se desconoce si la RBV atraviesa la placenta o si se distribuye en la leche materna.

En cuanto a la eliminación, la RBV se elimina por vía metabólica y renal. Se conocen 2 vías de metabolismo de la RBV: una vía de fosforilación reversible a sus formas mono- di- y tri- fosfato y una vía degradativa de desribosilación e hidrólisis de la amida para dar lugar al metabolito ácido triazol carboxílico. Tanto la RBV como su metabolito se eliminan por vía renal. La RBV tiene un tiempo de semivida de eliminación muy largo, lo que podría reflejar su extensiva acumulación en compartimentos no plasmáticos como los glóbulos rojos y su lento aclaramiento de los mismos. Por esta razón, el estado de equilibrio estacionario de la RBV no se alcanza hasta la semana 4 de tratamiento.

Finalmente, la farmacocinética de la RBV está influida por los alimentos: alimentos ricos en grasas incrementan la concentración máxima (C_{max}) y el área bajo la curva (ABC) hasta un 70%, por retraso del vaciado gastrointestinal y mejora de la disolución de la forma farmacéutica; por el

contrario, alimentos ricos en purinas pueden disminuir la C_{max} y ABC hasta 36% por una posible competición entre las purinas de los alimentos y la RBV por unirse al transportador de nucleósidos a nivel intestinal (Glue 1999; Dixit *et al.* 2006).

Tabla 4. Principales parámetros farmacocinéticos de la RBV.

F (%)	Unión proteínas plasmáticas	Vd (L)	t _{1/2} (h)	Cl (L/h)
45-65	No	~4500	~300	22-29

F, biodisponibilidad; Vd, volumen aparente de distribución; t_{1/2}, tiempo de semivida de eliminación; Cl, aclaramiento.

Estudios de farmacocinética poblacional han examinado los factores que influyen en la variabilidad interindividual de las concentraciones de RBV. Los modelos, realizados en pacientes monoinfectados VHC, han mostrado que las principales covariantes son el peso corporal, el sexo, la edad y la creatinina sérica (Jen *et al.* 2000; Bruchfeld *et al.* 2002; Jen *et al.* 2002; Wade *et al.* 2006).

El volumen de distribución de la RBV depende principalmente del peso corporal. En cambio, el aclaramiento depende del peso corporal y del Cl de creatinina (Cl Cr). Donnerer *et al.* encontraron una correlación negativa entre las concentraciones plasmáticas de RBV y la filtración glomerular (Donnerer *et al.* 2006). La función renal es un factor importante en la farmacocinética de la RBV, especialmente cuando el Cl Cr está alterado (Cl Cr < 43 mL/min) (Wade *et al.* 2006). En pacientes infectados por VIH, en los que el riesgo de afectación renal es mayor debido a la nefropatía asociada al VIH y al daño causado por algunos antirretrovirales (ej, indinavir, tenofovir, etc), esta consideración podría ser especialmente relevante

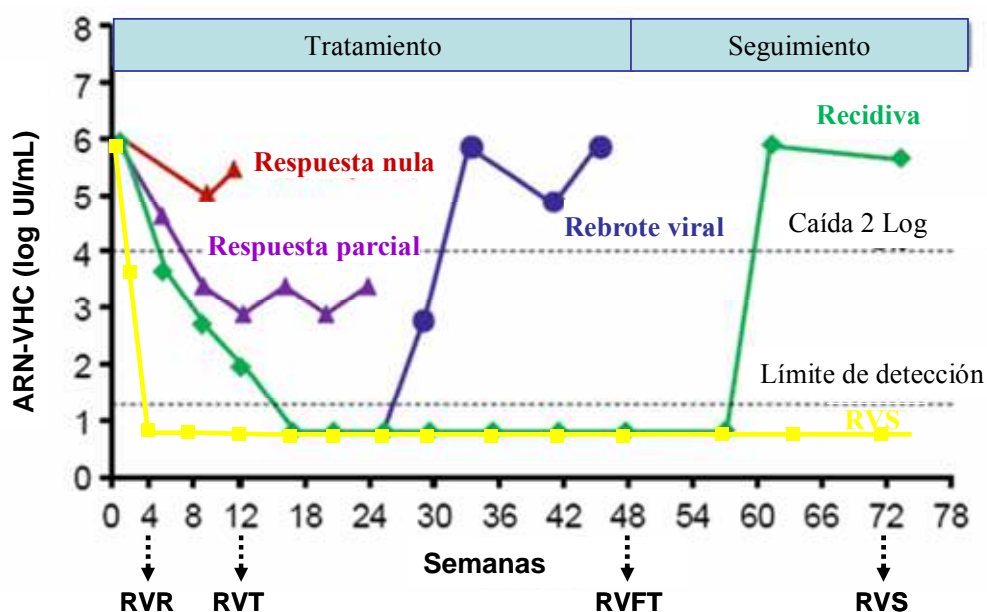
(Fabian *et al.* 2007). Sin embargo, a pesar de los datos aportados por los estudios farmacocinéticos, las variables sexo, edad, peso corporal y CI Cr sólo explican un $\sim 30\%$ de la variabilidad interindividual de las concentraciones plasmáticas de RBV.

2.3.2 Cinética viral y respuesta virológica al tratamiento

Existen varios tipos de respuesta al tratamiento con pegIFN + RBV (**Figura 9**):

- Respuesta virológica sostenida (RVS)** o curación de la infección por VHC: ARN-VHC indetectable en plasma 24 semanas después de finalizar el tratamiento.
- Recidiva:** ARN-VHC indetectable al finalizar el tratamiento pero rebrote durante las siguientes 24 semanas.
- No respuesta:** ARN-VHC detectable al finalizar el tratamiento.

Figura 9. Tipos de respuestas al tratamiento con pegIFN y RBV.



RVR, respuesta virológica rápida; RVT, respuesta virológica temprana; RVFT, respuesta virológica a fin de tratamiento; RVS, respuesta virológica sostenida.

La terapia con IFN-alfa o pegIFN-alfa resulta en una caída bifásica de la carga viral: una primera caída rápida durante las primeras 24-48 horas, como resultado de la inhibición de la replicación viral y del aclaramiento de las partículas víricas circulantes en plasma, seguida de una segunda caída más lenta, variable entre diferentes individuos y atribuida al aclaramiento de las células infectadas. Ambas fases son dosis-dependiente y son, fundamentalmente la segunda fase, predictoras de la respuesta virológica final (revisado por Feld *et al.* 2005). En monoterapia, la RBV produce una caída temprana pero transitoria del ARN-VHC (Pawlotsky *et al.* 2004). En combinación con IFN-alfa o pegIFN-alfa, la RBV produce una aceleración dosis-dependiente de la segunda fase de caída de la carga viral, lo que resulta en una reducción de la tasa de recidiva después de finalizar el tratamiento (McHutchison *et al.* 1998; Poynard *et al.* 1998; Manns *et al.* 2001; Fried *et al.* 2002; Pawlotsky *et al.* 2004). Sin embargo, el efecto de la RBV no se observa en todos los pacientes, ya que depende de la efectividad del IFN-alfa en el bloqueo la producción viral. Así, cuando la efectividad del IFN-alfa es alta, como cuando se emplean altas dosis o en el tratamiento de genotipos 2 ó 3, la RBV parece tener un papel mínimo, dado que la producción viral es bloqueada eficientemente por el IFN-alfa. Sin embargo, cuando la efectividad del IFN es baja, como en el tratamiento de los genotipos 1 ó 4, la RBV juega un papel más importante en la reducción de la infectividad viral potenciando la segunda caída de la carga viral (Dixit *et al.* 2004; Pawlotsky *et al.* 2004).

La tasa de RVS con la combinación de pegIFN y RBV es menor en pacientes coinfectados VIH/VHC que en pacientes mono infectados VHC y va del 27% al

50% (Carrat *et al.* 2004; Chung *et al.* 2004; Laguno *et al.* 2004; Torriani *et al.* 2004; Nuñez *et al.* 2007). En comparación, es del 50-60% en mono infectados (Manns *et al.* 2001; Fried *et al.* 2002). Los pacientes coinfectados VIH/VHC presentan una menor respuesta inicial al tratamiento del VHC y una mayor tasa de recidiva tras completar el curso de tratamiento (15-37%). Ambos hechos contribuyen a que la tasa de RVS en pacientes VIH/VHC sea menor que en pacientes VHC. Esto puede ser debido a que los pacientes coinfectados VIH/VHC tienen más factores predictores de fracaso virológico como mayor viremia basal y/o aclaramiento viral más lento, fibrosis hepática más avanzada, mayor frecuencia de resistencia a la insulina, menor efectividad del IFN-alfa por la inmunodepresión y tasas de abandono más altas.

2.3.3 Efectos adversos del tratamiento

La combinación antiviral de pegIFN y RBV está asociada a frecuentes efectos adversos como anemia, neutropenia, trombocitopenia, rash, anorexia y depresión. Especialmente la anemia puede requerir reducciones de dosis o incluso suspensión de la terapia. La RBV y, en menor grado, el pegIFN, pueden reducir las concentraciones de hemoglobina (Hb) por diferentes mecanismos. La RBV produce anemia hemolítica por acumulación de las formas trifosfato de la RBV en el interior de los glóbulos rojos (la fosforilación de la RBV en los glóbulos rojos es irreversible porque éstos carecen de fosfatasas) y consiguiente depleción del ATP intracelular (Sulkowski *et al.* 2004; Tanaka *et al.* 2005); mientras que el interferón produce supresión de la médula ósea (Peck-Radosavljevic *et al.* 2002). Estos efectos aditivos son responsables de una caída media de los niveles de Hb de 2-3 g/dL durante las 12 primeras

semanas de terapia. Alrededor de un 10% de los pacientes experimentan una caída de Hb por debajo de 10 mg/dL y requieren reducciones de dosis de RBV, con el riesgo de no conseguir RVS (Hung *et al.* 2006). Entre los factores asociados con mayor riesgo de desarrollar anemia, se encuentran la edad avanzada, sexo femenino, bajo peso corporal, bajo número de plaquetas, nivel de Hb basal bajo y Cl Cr reducido (Van Vlierbergh *et al.* 2001; Hung *et al.* 2006).

2.4 Factores predictores de respuesta virológica en pacientes coinfectados VIH/VHC

Los pacientes coinfectados VIH/VHC progresan antes a cirrosis y, además, presentan una menor respuesta al tratamiento del VHC que los pacientes monoinfectados VHC. Por esto, es crucial conocer todos aquellos factores que pueden predecir la respuesta virológica del tratamiento del VHC para, así, optimizar la eficacia del mismo en el paciente coinfectado VIH/VHC.

Los factores asociados con la respuesta virológica al tratamiento con pegIFN y RBV se pueden clasificar en 3 grupos: relacionados con el virus, el paciente y el tratamiento (**Tabla 5**).

Tabla 5. Factores asociados con mejor respuesta en pacientes coinfectados VIH/VHC.

Virus	Paciente	Tratamiento
<ul style="list-style-type: none"> • Genotipo VHC 2 ó 3. • Carga viral basal baja. • Variabilidad genética basal baja. • Cinética viral inicial (alcanzar RVR). • Menor duración de la infección VHC. 	<ul style="list-style-type: none"> • Edad joven. • Sexo femenino. • Raza no negra. • Peso corporal bajo. • Alelos HLA. • Polimorfismos en genes de citoquinas. • Niveles de citoquinas. • Expresión de ISGs. • LDL elevada. • Ausencia de resistencia a la insulina. • ALT elevada. • GGT baja. • Ausencia de fibrosis hepática. • Ausencia de esteatosis hepática. • Cifra de CD4 elevada. • No abuso de drogas. • No enfermedad psiquiátrica. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dosis óptimas de pegIFN y RBV. • Duración óptima. • Buena adherencia. • Interacciones con ARVs.

RVR: respuesta virológica rápida; ISGs: genes estimulados por interferón; LDL: lipoproteína de baja densidad; ALT; alanina aminotransferasa; GGT: gamma glutamiltransferasa.

a. Factores dependientes del VHC.

Los principales factores que predicen la respuesta al tratamiento son el genotipo viral, seguido de la viremia basal (revisado por Soriano *et al.* 2010). También puede afectar negativamente al aclaramiento del VHC la presencia de una alta variabilidad de cuasiespecies de forma basal. Estos factores virales pueden causar resistencia al tratamiento a través de complejas interacciones entre proteínas o genes virales y numerosas funciones celulares. Por ejemplo, varias proteínas virales (la poliproteína completa y las proteínas E2, NS3/NS4A y NS5A) pueden bloquear la vía de señalización del IFN-alfa y/o alterar la expresión de determinadas citoquinas (revisado por Pawlotsky 2003).

Varios estudios han evaluado la asociación entre mutaciones virales y la respuesta al tratamiento del VHC. La RBV y el IFN-alfa no inhiben directamente ninguna proteína o enzima virales, por lo que no ejercen una presión selectiva de forma específica sobre la población viral. Así, no se ha identificado ningún patrón específico de mutaciones de resistencias en los pacientes que fracasan a la terapia con pegIFN y RBV. Con respecto al IFN-alfa, el número de mutaciones en la región ISDR (Interferon Sensitivity Determining Region) se ha asociado con una menor respuesta al IFN-alfa en genotipos VHC 1b, pero su utilidad parece estar restringida al subtipo J (Japan-specific) (revisado por Wohnsland *et al.* 2007). Con respecto a la RBV, sólo 3 estudios *in vitro* han encontrado mutaciones en NS3, NS4B, NS5A y NS5B asociadas con resistencia a RBV (Young *et al.* 2003; Pfeiffer *et al.* 2005; Hmwe *et al.* 2010). Sin embargo, dichas mutaciones no han sido confirmadas en estudios posteriores *in vivo*.

La cinética de la carga viral del VHC a lo largo del tratamiento es el mejor indicador de la respuesta virológica y permite predecirla en fases precoces. La respuesta virológica rápida (RVR), definida como la negativización del ARN-VHC en la semana 4 de tratamiento, tiene un alto valor predictivo positivo, es decir, que permite identificar a los pacientes que tienen una alta probabilidad de erradicar el VHC. La respuesta virológica temprana (RVT), definida como ARN-VHC indetectable o caída del ARN-VHC superior a 2 logaritmos en la semana 12 de tratamiento, tiene un alto valor predictivo negativo, es decir, que permite identificar a los pacientes que no van a responder al tratamiento del VHC. De esta forma, los pacientes que no alcanzan RVT, pueden suspender de forma

precoz el tratamiento, evitando así, efectos secundarios y costes innecesarios. Los pacientes con RVT en semana 12 pero viremia detectable en semana 24 tienen mínimas probabilidades de responder, de modo que en este grupo de pacientes también se recomienda suspender el tratamiento (Rockstroh *et al.* 2008).

b. Factores dependientes del paciente.

Los factores dependientes del paciente que se han asociado con la respuesta virológica se pueden clasificar en: a) factores genéticos como sexo, raza, obesidad, tipaje HLA y variantes genéticas que pueden afectar a los niveles de citoquinas o a la vía de señalización del IFN-alfa; b) otros factores no genéticos como el peso corporal, edad, cifra de CD4, niveles de LDL y presentar resistencia a la insulina; c) factores exógenos como el abuso de alcohol y otras drogas; y d) características de la enfermedad hepática como presentar cirrosis y/o esteatosis y los niveles de transaminasas hepáticas. Además, el tratamiento está contraindicado en pacientes con enfermedad hepática descompensada (Child-Pugh B o C) por el alto riesgo de progresión de la enfermedad hepática y en pacientes con enfermedad psiquiátrica previa, en los que está contraindicado el uso del pegIFN.

Varios estudios han evaluado las diferencias en la expresión de genes a nivel hepático entre respondedores y no respondedores. La expresión de determinados genes a nivel basal, como los ISGs, es mayor en pacientes no respondedores, pero la combinación pegIFN-RBV produce una mayor inducción en la expresión de dichos genes en los pacientes respondedores

comparado con los pacientes no respondedores (revisado por Selzner *et al.* 2008). Los factores del huésped podrían jugar un papel muy importante en las diferencias observadas en la expresión de los genes a nivel hepático entre respondedores y no respondedores.

c. Factores dependientes del tratamiento.

Para maximizar la eficacia de la terapia del VHC, es fundamental utilizar dosis altas de RBV según peso corporal (1000 ó 1200 mg/día) (Nuñez *et al.* 2007; Ramos *et al.* 2007). Además, es importante mantener dosis altas de RBV a lo largo de todo el tratamiento, ya que la reducción de la dosis de RBV se asocia con una menor RVS, especialmente en pacientes con genotipos 1 ó 4 (Reddy *et al.* 2007). La prescripción de dosis de RBV superiores a 1200 mg/día ha demostrado mayor eficacia que las dosis de 1000 o 1200 mg/día en pacientes monoinfectados VHC (Lindahl *et al.* 2005). Sin embargo, el riesgo de anemia obliga a utilizar de forma preventiva factores de crecimiento hematopoyéticos, estrategia que encarece el tratamiento y parece no mejorar la tasa de respuesta virológica (Vispo *et al.* 2010).

En cuanto al pegIFN, no sólo es importante administrar dosis óptimas, sino que también es importante escoger el tipo de pegIFN, ya que pegIFNalfa-2a parece ser más efectivo que pegIFNalfa-2b por sus diferencias farmacocinéticas (Vispo *et al.* 2008; Awad *et al.* 2010; Foster 2010).

Otro factor relacionado con el tratamiento del VHC, es la duración de la terapia. Las últimas recomendaciones de optimización de la duración del tratamiento del VHC están basadas en el genotipo viral y en la cinética viral inicial (**ver**

Figura 6). Los pacientes infectados con genotipos 2 ó 3 con RVR pueden reducir tratamiento a 24 semanas. En cambio, aquellos pacientes con genotipos 1 ó 4 sin RVR pero con RVT y carga viral indetectable en semana 24, podrían beneficiarse de prolongar tratamiento hasta 72 semanas, aunque los pacientes no siempre aceptan bien esta estrategia (Rockstroh *et al.* 2008).

La adherencia al tratamiento es un factor clave para alcanzar RVS. Un objetivo fundamental para lograr RVS es el mantenimiento de, al menos, el 80% de las dosis de RBV y pegIFN durante más del 80% del período previsto de tratamiento. Para ello, es necesario seleccionar adecuadamente los pacientes candidatos a tratamiento y prevenir y manejar correctamente los efectos adversos.

Por último, las interacciones farmacológicas entre RBV y fármacos antirretrovirales pueden incrementar la toxicidad o comprometer la respuesta virológica. En el primer grupo, se encuentran las interacciones entre RBV y didanosina, estavudina y zidovudina. Dado que la RBV es un análogo de nucleósido, se ha sugerido que el uso concomitante de RBV e inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido puede potenciar la toxicidad mitocondrial de éstos últimos. Así, el uso concomitante de didanosina y RBV no está recomendado porque se han reportado casos de fallo hepático, neuropatía periférica, pancreatitis y acidosis láctica. La RBV debe ser usada con precaución cuando se coadministra con estavudina y el uso concomitante de zidovudina y RBV debe evitarse o hacerlo con precaución y estrecha monitorización debido al incremento del riesgo de anemia. En el segundo grupo

de interacciones, se encuentra la interacción entre RBV y abacavir. El uso de abacavir se ha asociado con una baja tasa de RVS fundamentalmente en pacientes tratados con bajas dosis de RBV y bajas concentraciones plasmáticas de RBV (Bani-Sadr *et al.* 2007; Mira *et al.* 2008; Vispo *et al.* 2008). Debido a que RBV y abacavir comparten enzimas intracelulares de fosforilación, se ha sugerido que el abacavir podría ejercer una inhibición de tipo competitiva sobre dichos enzimas, reduciendo así la actividad antiviral de la RBV.

2.4.1 Monitorización de Concentraciones Plasmáticas

2.4.1.1 Definición y requisitos

La monitorización de concentraciones plasmáticas (MCP) es una herramienta que busca la individualización de la dosificación de un fármaco en función de las concentraciones plasmáticas del mismo para conseguir el máximo beneficio terapéutico con el menor riesgo de efectos adversos.

Los fármacos tienen que cumplir una serie de requisitos para poder ser monitorizados:

1. Debe existir una correlación entre las concentraciones plasmáticas y las concentraciones del fármaco en el lugar de acción.
2. Debe existir una correlación entre las concentraciones plasmáticas y el efecto farmacológico.
3. El rango terapéutico debe ser relativamente estrecho.

4. Las concentraciones plasmáticas deben presentar una alta variabilidad interindividual.
5. Las concentraciones plasmáticas deben presentar una baja variabilidad intraindividual.
6. Debe existir una técnica analítica que sea exacta, precisa, sensible, específica, reproducible, barata y que requiera pequeños volúmenes de muestra.

2.4.1.2 Estudios farmacocinéticos-farmacodinámicos con RBV

Las **Tablas 6, 7 y 8** recogen los principales estudios que han evaluado la asociación entre los parámetros farmacocinéticos (la concentración valle o concentración mínima obtenida justo antes de la toma de la siguiente dosis, la concentración máxima y el área bajo la curva) y los parámetros farmacodinámicos (parámetros virológicos: RVR, RVT, RVS; parámetros de toxicidad: anemia). Hasta la fecha, se han realizado 16 estudios en pacientes monoinfectados VHC, 5 estudios en pacientes especiales monoinfectados VHC y 9 estudios en pacientes coinfectados VIH/VHC (revisado por Morello *et al.* 2008; Chan *et al.* 2009).

Tabla 6. Estudios que evaluaron la asociación entre las concentraciones de ribavirina y la respuesta virológica y/o toxicidad al tratamiento del VHC en pacientes mono infectados con VHC.

No. Pacientes	Caracts. pacientes y estudio	Genotipo VHC (No. pts)	Dosis RBV (mg/día)	Tipo IFN (dosis)	Semanas tratamiento	Asociación [RBV] – Respuesta virológica	Asociación [RBV] – Toxicidad	Punto de cote [RBV] plasmática, sérica o intraeritrocitaria (ug/mL)	Referencia
1105	940 naïve, 165 recidiva Retrospectivo	G1 y no G1	1000 o 1200	IFN-alfa 2b (3 MU tres veces/semana)	24 y 48	Cs semana 4 – RVS	Cs - nadir Hb	3.5 – 4 (49% RVS) > 4 (65% RVS)	(Jen <i>et al.</i> 2000)
1367	No hay datos	G1 y no G1	800 - 1200	IFN-alfa 2b o PegIFN-alfa 2b	48	Cs – RVS	Cs – anemia		(Jen <i>et al.</i> 2002)
24	Naïve (Caucásicos) Retrospectivo	G1	1000 o 1200	PegIFN-alfa (3 MU tres veces/semana)	24	Cs/dosis RBV semanas 12 y 24 - RVS		0.24±0.03 ug/mL/dosis semana 12 (RVS) 0.28±0.03 ug/mL/dosis semana 24 (RVS)	(Larrat <i>et al.</i> 2003)
27	Naïve (Asiáticos) Retrospectivo	G1	800	IFN-alfa 2b (6 MU/día primeras 2 semanas y después tres veces/semana)	24	Cs semana 4 y 8 - RVS		2.5 – 3 semana 4 (100% RVS) ≥ 3 semana 8 (100% RVS)	(Tsubota <i>et al.</i> 2003)
108	Naïve (Caucásicos) Prospectivo	G1 (32), G2 o G3 (69)	800 - 1200	IFN-alfa 2b (3-5 MU tres veces/semana) o pegIFN-alfa 2b (1.5 ug/kg/semana)	No hay datos		Asociación lineal Cp - Nivel Hb	1.1 (7.5% caída Hb) 2 (15% caída Hb)	(Lindahl <i>et al.</i> 2004)
19	Naïve (Asiáticos) Retrospectivo	G1 (14), G2 (5)	600 - 800	IFN-alfa 2b (6 MU 6 veces/semana primeras 2 semanas y después 3 veces/semana)	24		Asociación Cp máxima a lo largo del tratamiento - nadir Hb	> 3.5 (Hb<8.5 g/dL)	(Maeda <i>et al.</i> 2004)
19	Naïve (Asiáticos) Prospectivo	G1 (13), G2 (6)	600 o 800	IFN-alfa 2b (6 o 10 MU/día primeras 4 semanas y después tres veces/semana)	24		Cp semana 1 - anemia y erupción cutánea semana 4	> 1.5 (anemia y erupción cutánea)	(Uchida <i>et al.</i> 2004)
68	Naïve (Asiáticos) Retrospectivo	G1	600 o 800	IFN-alfa 2b (6 MU/día primeras 2 semanas y después 3 veces/semana)	24	Cs semana 8 - RVS	Cs semana 8 - caída Hb semana 8	>3 (44% RVS) > 3.5 (57% anemia)	(Arase <i>et al.</i> 2005)
10	Naïve (Caucásicos) Prospectivo	G1	1200 – 3600	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	48	Cp - RVS		3.66 (90% RVS)	(Lindahl <i>et al.</i> 2005)
55	Naïve (Caucásicos) Retrospectivo	G1 (28), G2 (5), G3 (10), G4(2)	800 - 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) o 2b (1.5 ug/kg/semana)	No hay datos	No asociación Cs semana 12 - RVT	No asociación Cs semana 12 - caída Hb		(Donnerer <i>et al.</i> 2006)
19	Naïve (Asiáticos) No hay datos	G1 (12), G2 (5), ¿? (2)	600 o 800	IFN-alfa 2b (10 MU/día primeras 2 semanas y después 6 MU tres veces/semana)	24		Ce semana 4 - caída Hb	≥ 244.2 (caída Hb y Ht)	(Inoue <i>et al.</i> 2006)

Continuación Tabla 6.

No. Pacientes	Caracts. pacientes y estudio	Genotipo VHC (No. pts)	Dosis RBV (mg/día)	Tipo IFN (dosis)	Semanas tratamiento	Asociación [RBV] – Respuesta virológica	Asociación [RBV] – Toxicidad	Punto de cote [RBV] plasmática, sérica o intraeritrocitaria (ug/mL)	Referencia
97	Naïve (Asiáticos) Prospectivo	G1 (65), G2 (32)	600 o 800	IFN-alfa 2b (6 MU/día primeras 2 semanas y después 3 veces/semana)	24	No asociación Cs - RVS	Cs días 7, 14 y 28 - caída máxima Hb		(Saito <i>et al.</i> 2006)
24	Naïve (No hay datos) Retrospectivo	G1, G2, G3, G4	800 - 1200	IFN-alfa 2b (6 MU/día primeras 2 semanas y después 3 veces/semana) o pegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	24 o 48	ABC0-24h - RVS en pacientes G1	ABC0-24h – anemia		(Snoeck <i>et al.</i> 2006)
24	Naïve (Caucásicos) Prospectivo	G1	1000 o 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	12 + 36	ABC0-12h, ABC0-4h, Cmax y Cp1.5h después de primera dosis - RVS	ABC después de la primera dosis - niveles Hb semana 12	3014 ug/hora/L (ABC0-12h 67% RVS) 1755 ug/hora/L (ABC0-4h 85% RVS)	(Loustaud-Ratti <i>et al.</i> 2008)
31	Naïve y recidiva (Caucásicos) Prospectivo	G1	800 - 1200	PegIFN-alfa 2b (1.5 ug/kg/semana)	48	Cp semana 4 - RVS		>2.01 (67% RVS)	(Maynard <i>et al.</i> 2008)
120	Naïve y recidiva (Asiáticos) Prospectivo	G1	600 - 1000	PegIFN-alfa 2b(1.5 ug/kg/semana)	48 o 72	Cs semana 1 y 8 - RVS			(Shirakawa <i>et al.</i> 2008)

RVS: respuesta virológica sostenida; RVT: respuesta virológica temprana; Cs: concentración sérica; Cp: concentración plasmática; Ce: concentración intraeritrocitaria; ABC: área bajo la curva; Cmax: concentración máxima; Hb: hemoglobina; Ht: hematocrito; G1: genotipo 1; G2: genotipo 2; G3: genotipo 3; G4: genotipo 4.

Tabla 7. Estudios que evaluaron la asociación entre las concentraciones de ribavirina y la respuesta virológica y/o toxicidad al tratamiento del VHC en pacientes mono infectados VHC con insuficiencia renal o hepática.

No. pacientes	Caracts. pacientes y estudio	Genotipo VHC (No. pts)	Dosis RBV (mg/día)	Tipo IFN (dosis)	Semanas tratamiento	Asociación [RBV] - Respuesta virológica	Asociación [RBV] - Toxicidad	Punto de corte [RBV] plasmática, sérica o intraeritrocitaria (ug/mL)	Referencia
7	Naïve Insuficiencia renal (Caucásicos)	G1 (1), G2 (Amorosa <i>et al.</i>), G3 (Amorosa <i>et al.</i>)	Inicio: 200-800. Posterior ajuste según Cp.	IFN-alfa 2b (1.5 o 3 MU tres veces/semana) o PegIFN-alfa 2b (50 ug/semana)	24 (G2, G3), 48 (G1)			2.44-3.66 (71% RVS)	(Bruchfeld <i>et al.</i> 2003)
6	Naïve Hemodiálisis (Caucásicos)	G1 (4), G2 (1), G4 (1)	Inicio: 200-400. Posterior ajuste según Cp	PegIFN-alfa 2a (135 ug/semana) o 2b (50 ug/semana)	24 (G2, G3), 48 (G4)			2.44 - 3.66 (50% RVS)	(Bruchfeld <i>et al.</i> 2006)
7	Naïve Hemodiálisis (Caucásicos) Prospectivo	G1 (4), G2 (1), G3 (1), G4 (1)	Inicio: 100. Posterior ajuste según niveles Hb y Cp	PegIFN-alfa 2a (135 ug/semana)	24 (G2, G3), 48 (G1, G4)			1.5 - 2.5 (71 % RVS)	(van Leusen <i>et al.</i> 2008)
35	Naïve Hemodiálisis (Caucásicos) Prospectivo	G1 (16), no G1 (19)	Inicio: 200. Posterior ajuste según niveles Hb y Cp	PegIFN-alfa 2a (135 ug/week)	24 (no G1), 48 (G1)			2.44 - 3.66 (97% RVS)	(Rendina <i>et al.</i> 2007)
12 transplante hepático 17 control	Naïve y recidiva Transplante hepático vs. Controles (Caucásicos) Prospectivo	Transplante hepático: G1 (9), G2 (1), G3 (1), G4/5 (1) Control: G1 (13), G2 (2), G3 (2), G4/5 (1)	Transplante hepático: 200 -1000 Control: 400 -1200	Transplante hepático: PegIFN-alfa 2b (0.5 o 1 ug/kg/semana) Control: PegIFN-alfa 2b (1 o 1.5 ug/kg/semana)	Transplante hepático: 48 Control: 24 (G2, G3), 48 (G1, G4)	Cp y tasa RVS similares en pacientes con transplante hepático y controles	Niveles Hb similares en pacientes con transplante hepático y controles		(Dumortier <i>et al.</i> 2006)

RVS: respuesta virológica sostenida; Cp: concentración plasmática; Hb: hemoglobina; G1: genotipo 1; G2: genotipo 2; G3: genotipo 3; G4: genotipo 4.

Tabla 8. Estudios que evaluaron la asociación entre las concentraciones de ribavirina y la respuesta virológica y/o toxicidad al tratamiento del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC.

No. Pacientes	Caracts. pacientes y estudio	Genotipo VHC (No. pts)	Dosis RBV (mg/día)	Tipo IFN (dosis)	Semanas tratamiento	Asociación [RBV] - Respuesta virológica	Asociación [RBV] – Toxicidad	Punto de corte [RBV] plasmática, sérica o intraeritrocitaria (ug/mL)	Referencia
98	Naïve (Caucásicos) Retrospectivo	G1 (63), G2 (1), G3 (32), G4 (2)	800 - 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	24 (G2, G3), 48 (G1, G4)	Cp semana 4 y 12 - RVR y RVT	Cp - caída Hb	>2.7 (80% EVR) >2.8 (caída Hb > 2 g/dL)	(Rendon <i>et al.</i> 2005)
24	Naïve (No hay dato) Prospectivo	G1(21), G2/3 (Amorosa <i>et al.</i>)	1000 o 1200	PegIFN-alfa 2b (1.5 ug/kg/semana)	48	Cp 2 primeras semanas y ABC días 3, 7, 14 y 28 menores en RVS que en no respondedores			(Dahari <i>et al.</i> 2007)
94	Caucásicos		800-1200	PegIFN-alfa 2b (1.5 ug/kg/semana)	24, 48, 60 según carga viral semanas 4, 12, 24	No asociación Cs semana 4y12 - RVR, RVT	No asociación Cs - caída Hb		(Crespo <i>et al.</i> 2007)
52 toxicidad 39 eficacia	Naïve (Caucásicos) Prospectivo	G2 o G3 (23), G1 o G4 (29)	600 - 1000	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) o 2b (1.5 ug/kg/semana)	48	Cp media (semana 2-48) - RVT y RVS solo en G1 y G4	Cp media - caída Hb > 4 g/dL	> 1.6 (67% RVT, 58% RVS en G1 y G4) >2.3 (60% caída Hb >4 g/dL)	(Aguilar <i>et al.</i> 2008)
126	Naïve (Caucásicos) Prospectivo	G1(68), G3 (40), G4 (18)	800 - 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	24 (G2, G3), 48 (G1, G4)	No asociación Cp - RVS			(Lopez-Cortes <i>et al.</i> 2008)
35	Naïve Caucásicos Retrospectivo	G1/4 (21) G2/3 (14)	600 - 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) o 2b (1.5 ug/kg/semana)	48	Cp - RVS sólo en G1 y G4		> 2.3 (67% RVS)	(Nicot <i>et al.</i> 2008)
493	Naïve Caucásicos Retrospectivo	G1/4 (322) G2/3 (171)	1000 o 1200	PegIFN-alfa 2a(180 ug/semana) o 2b (1.5 ug/kg/semana)	48	Cp semana 4 – RVS		> 2.3 (60% RVS)	(Vispo <i>et al.</i> 2008)
17	Previo fracaso	G1, G2, G3, G4	800 - 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	48	Cp semana 12 – RVS	No asociación	> 1.8 (100% RVS) > 1.9 (88% RVS)	(Breilh <i>et al.</i> 2009)
52	Recidiva y no respondedores Prospectivo	G1/4 (41) G2/3 (11)	1000 o 1200	PegIFN-alfa 2a (180 ug/semana)	48	Cp semana 4 – RVS		> 2.07 (83% RVS)	(Labarga <i>et al.</i> 2010)

RVS: respuesta virológica sostenida; RVT: respuesta virológica temprana; RVR: respuesta virológica rápida; Cs: concentración sérica; Cp: concentración plasmática; Hb: hemoglobina; G1: genotipo 1; G2: genotipo 2; G3: genotipo 3; G4: genotipo 4.

Aunque los resultados obtenidos en los estudios anteriores son variables, probablemente debido a diferencias en las características de los pacientes, en la terapia VHC y en la metodología empleada para cuantificar los niveles de RBV, la mayoría de ellos encontraron una asociación lineal entre las concentraciones de RBV en plasma, suero o intraeritrocitarias y la eficacia virológica y el desarrollo de anemia. Por tanto, la MCP de RBV de forma temprana podría ayudar a ajustar la dosis de RBV incrementando así la eficacia y la seguridad del tratamiento del VHC en los siguientes escenarios:

1. Pacientes con mayor riesgo de fracaso virológico: pacientes con genotipos virales 1 ó 4 y en general pacientes coinfectados VIH/VHC, en los que la efectividad del IFN es menor.
2. Anemia severa.
3. Interacciones farmacocinéticas.
4. Sospecha de falta de adherencia.
5. Poblaciones especiales que tengan parámetros farmacocinéticos alterados con respecto a la población general y que, por tanto, tengan mayor riesgo de alcanzar concentraciones subóptimas o tóxicas: pacientes con peso corporal muy bajo o muy alto, pacientes con enfermedades gastrointestinales, pacientes con insuficiencia renal, pacientes con insuficiencia hepática y niños.

2.4.2 Factores farmacogenéticos

El término «farmacogenética» fue acuñado por Friedrich Vogel en 1959 y lo definió como el «estudio del papel de la genética en la respuesta a los fármacos». El objetivo de la farmacogenética es individualizar el tratamiento

mediante la detección de variantes genéticas (SNPs) asociadas con la eficacia y/o toxicidad de los fármacos. Gracias al proyecto Genoma Humano y a los avances tecnológicos para abordar la variabilidad genética, la farmacogenética ha experimentado un rápido crecimiento en los últimos años y se ha convertido en un campo con grandes expectativas en medicina clínica.

Actualmente, la farmacogenética se centra en el estudio de variantes genéticas a nivel de las enzimas metabolizadoras, proteínas transportadoras, receptores nucleares y otros genes relacionados con la susceptibilidad a los efectos adversos de los fármacos (ej. Complejo mayor de histocompatibilidad).

2.4.2.1 Farmacogenética en la respuesta virológica al tratamiento del VHC

En el área del VHC, la farmacogenética se ha centrado, fundamentalmente, en el estudio de variantes genéticas a nivel del complejo mayor de histocompatibilidad, el IFN-alfa y otras citoquinas. Varios trabajos han asociado la respuesta virológica con determinados alelos HLA de clase I y II como B44, A11, B51, Cw15, DRB1*15, DRB1*0404 y el haplotipo DRB1*0701-DQA1*0201-DQB1*02 (Sim *et al.* 1998; Wawrzynowicz-Syczewska *et al.* 2000; Romero-Gomez *et al.* 2003; Yu *et al.* 2003). Sin embargo, la mayoría de dichas variantes no han sido confirmadas en estudios posteriores, por lo que el impacto del HLA en la respuesta al tratamiento del VHC no es concluyente.

Otros trabajos han encontrado una asociación entre la respuesta virológica y determinados SNPs a nivel del receptor del IFN-alfa, de kinasas de la vía de señalización que activa el IFN-alfa y de los ISGs como MxA o PKR (**Tabla 9**).

Por último, también se han encontrado SNPs asociados con la respuesta virológica a nivel de los genes que codifican para diversas citoquinas como la interleuquina 10, el factor de crecimiento celular beta 1, el factor de necrosis tisular alfa, la osteopontina, el IFN-gamma y el IFN-lambda **(Tabla 9)**.

Tabla 9. Estudios que han encontrado una asociación entre SNPs a nivel de la vía de señalización del IFN-alfa y otras citoquinas y la respuesta virológica al tratamiento del VHC.

No pts. Caracts.	Genotipo VHC (No pts)	Tratamiento VHC	Gen	Asociación SNP - respuesta virológica	Referencia
157 Asiáticos	G1 (102), G2 (55)	IFN	IFNAR1	Longitud de la repetición del dinucleótido GT: GT15 y GT14 - RVS (genotipo 5/5 o 5/14 presente en 80% de los que responden vs. 58% de los que no responden)	(Matsuyama <i>et al.</i> 2003)
581 Caucásicos Retratados	G1 (522) y no G1 (59)	pegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) + RBV (1000 o 1200 mg/día) 48 semanas	IFNAR1 IFNAR2 JAK1 ADAR	Rs2243592 T>G - RVS (OR GT+GG vs. TT 0,57 [0,36-0,9]) rs4986956 T>C - RVS (OR TC+CC vs. TT 2,07 [1,12-3,85]) rs2254002 G>T - RVS (OR GT+TT vs. GG 1,66 [1,03-2,66]) rs1127309 G>A - RVS (OR AG+AA vs. GG 1,67 [1,06-2,64])	(Welzel <i>et al.</i> 2009)
1055 Asiáticos	G1 (211), G2 (257)	IFN (6 MU/día 8 primeras semanas, dos veces por semana siguientes 16 semanas) 24 semanas	MAPKAPK3	rs3792323 A>T - RVS en pacientes G1b (OR alelo T 0,29 [0,14-0,61])	(Tsukada <i>et al.</i> 2009)
159 Asiáticos	G1, G2	No datos	MxA	-123C>A - RVS (46% en pacientes CA y AA vs. 23% en pacientes CC) rs2071430 G>T - RVS (43% en pacientes GT+TT vs. 21% en pacientes GG)	(Hijikata <i>et al.</i> 2001)
177 Caucásicos	G1 (70), no G1 (44), ¿? (63)	IFN-alfa	MxA PKR	rs2071430 G>T - respuesta en semana 12 de tratamiento. (OR GT vs. GG 2,06 [1,05-4,07]) Repetición CGG exón 1 - respuesta semana 12 de tratamiento. (OR con ≥ 9 repeticiones en los 2 alelos 2,29 [1,05-5,07]) Repetición CGG exón 1 - RVS (OR con ≥ 9 repeticiones 3,29 [1,1-10,5])	(Knapp <i>et al.</i> 2003)
235 Asiáticos Naïve	G1 (158), G2 (77)	IFN-alfa o IFN-beta (3-10 MU/día 2-8 semanas, 3 veces/semana siguientes 16-20 semanas) 8-26 semanas	MxA	rs2071430 G>T - SVR (OR alelo T 2,87 [1,3-6,3])	(Suzuki <i>et al.</i> 2004)
43 Caucásicos	G1 (21), G3 (15), ¿? (7)	IFN-alfa (3 MU 3 veces/semana) Mínimo 12 semanas	IL10	-819 C>T - RVS (OR CT+TT vs. CC 4,7 [1,3-17,8]) -592 C>A - RVS (OR AA+AC vs. CC 5,1 [1,4-19,1]) Haplotipo ATA formado por -1082A>G, -819C>T y -592C>A - RVS (OR haplotipo ATA 4,5 [1,2-16,8])	(Edwards-Smith <i>et al.</i> 1999)
103 Caucásicos		IFN + RBV	IL10	-592 -819 -1082 -2763 -3575 -819 C>T - RVS (OR TT vs. CT+CC 16,6) -592 C>A - RVS (OR AA vs. CA+CC 16,6) Haplotipo TCATA formado por -35754, -2763, -1082, -819, -592 - RVS (OR haplotipo TCATA en homocigosis 13,7)	(Yee <i>et al.</i> 2001)

Continuación Tabla 9.

No pts. Caracts.	Genotipo VHC (No pts)	Tratamiento VHC	Gen	Asociación SNP - respuesta virológica	Referencia
774 Afroamericanos, Caucásicos Retratados	G1	pegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) + RBV (1000 o 1200 mg/día) 48 semanas	IL10	Haplotipo ACC formado por -1082 A>G, -592 C>A y -819T/C - RVS en Caucásicos (OR ACC/ACC vs. GCC/GCC 2,59 IC95% [1,14-5,87])	(Morgan <i>et al.</i> 2008)
80 No datos	G1 (50), no G1 1 (18), ¿? (12)	IFN-alfa (3 MU 3 veces/semana) + RBV (1000 o 1200 mg/día) 48 semanas	TGF-β	29 T>C - RVFT (58% en pacientes TT+CT vs. 23% en pacientes CC)	(Vidigal <i>et al.</i> 2002)
34 Asiáticos	G3	IFN + RBV 24 semanas	TGF-β 1	-10 C>T - RVFT (RVFT favorecida en genotipo CC)	(Abbas <i>et al.</i> 2005)
77 Asiáticos	G1 y no G1	IFN o IFN + RBV	Osteopontina	-1748 - RVS (85% en pacientes GG+GA vs. 45% en pacientes AA) -443 - RVS (86% en pacientes TT vs. 47% en pacientes CC+CT)	(Naito <i>et al.</i> 2005)
141 Asiáticos Naïve	G1 (63), 2(59), ¿? (19)	IFN-alfa (6 MU 3 veces/semana) + RBV (1000 o 1200 mg/día) 24 semanas	TNF-α	-308 G>A - SVR (OR alelo G 5,53 [1,03-29,65])	(Dai <i>et al.</i> 2006)
284 Afroamericanos, Caucásicos	1 (223)	pegIFN + RBV	IFN-γ	rs2069707 C>G - RVS (OR alelo G 2,92 [1,07-7,94])	(Huang <i>et al.</i> 2007)
1137 Afroamericanos, Caucásicos, Hispanicos Naïve	G1	pegIFN-alfa 2a o 2b + RBV	IL28A - IL28B (IFN-λ)	rs12979860 T>C (OR CC vs. CT+TT 7,3 [5,1-10,4] en Caucásicos; 6,1 [2,3-15,9] en Afroamericanos; 5,6 [1,4-22,1] en Hispánicos)	(Ge <i>et al.</i> 2009)
848 Caucásicos	G1	pegIFN-alfa + RBV	IL28A - IL28B (IFN-λ)	rs8099917 T>G - No RVS (OR alelo G 1,98 [1,57-2,52])	(Suppiah <i>et al.</i> 2009)
454 Asiáticos	G1	pegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) o 2b (1.4ug/kg/semana) + RBV (600-1000)	IL28A - IL-28B (IFN-λ)	rs8099917 T>G - No RVS (OR alelo G 37,68 [16,71-83,85])	(Tanaka <i>et al.</i> 2009)
465 Caucásicos	G1 (188), G2 (60), G3 (162), G4 (34), ¿? (21)	pegIFN-alfa + RBV	IL28A - IL28B (IFN-λ)	rs8099917 T>G - No RVS sólo en G1 G4 (OR alelo G 15,79 [8,37-29,76])	(Rauch <i>et al.</i> 2010)
164 * Caucásicos	G1 (95), G3 (51), G1 (18)	pegIFN-alfa 2a (180 ug/semana) o 2b (1.4ug/kg/semana) + RBV (1000 o 1200 mg)	IL28A - IL28B (IFN-λ)	Rs12979860 T>C (OR CC vs. CT+TT 3,7)	(Rallón <i>et al.</i> 2010)

RVS: respuesta virológica sostenida; RVFT: respuesta fin tratamiento; G1, G2, G3, G4: genotipo 1, 2, 3, 4; OR: Odds Ratio; IFNAR1: subunidad 1 del receptor del interferón alfa; JAK1: Janus Kinasa 1; ADAR: adenosina desaminasa de ARN; MAPKAPK3: proteína kinasa 3 activada por proteína kinasa activada por mitógeno p38; MxA: proteína 1 de resistencia a myxovirus; PKR: proteína kinasa dependiente de RNA; IL: interleuquina; TGF-beta 1: factor de crecimiento transformador beta 1; TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa; IFN: interferón.

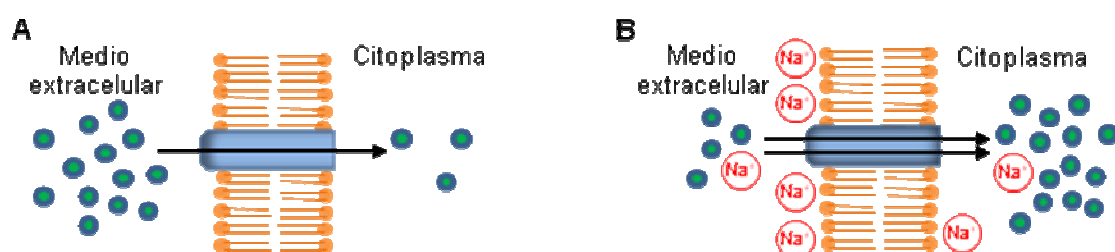
* Único estudio en pacientes coinfectados VIH/VHC.

2.4.2.2 Proteínas transportadoras de nucleósidos

Los transportadores de nucleósidos (NTs) son glicoproteínas transmembrana especializadas en el transporte celular de nucleósidos y nucleobases fisiológicos, así como de análogos (ej. antivirales, antitumorales).

Los NTs se han clasificado en 2 familias: los transportadores de nucleósidos equilibrativos (ENTs) y los transportadores de nucleósidos concentrativos (CNTs). Los ENTs median la difusión bidireccional de nucleósidos y nucleobases a favor de su potencial electroquímico, están codificados por el gen de la superfamilia de transportadores de solutos *SLC29A1* y comprenden 4 tipos: ENT1 (*SLC29A1*), ENT2 (*SLC29A2*), ENT3 (*SLC29A3*) y ENT4 (*SLC29A4*) (Baldwin *et al.* 2004). Los CNTs median el transporte unidireccional de nucleósidos y nucleobases en contra de su potencial electroquímico acoplado a un transporte de sodio a favor de gradiente, están codificados por el gen *SLC28A* y comprenden 3 tipos: CNT1 (*SLC28A1*), CNT2 (*SLC28A2*) y CNT3 (*SLC28A3*) (Gray *et al.* 2004). En la **Figura 10** se representan las diferencias en el transporte de solutos entre ENTs y CNTs.

Figura 10. Diferencias en el transporte celular entre transportadores de nucleósidos equilibrativos (ENTs) y concentrativos (CNTs). Figura A: difusión facilitada en ENTs. Figura B: transporte activo secundario en CNTs.



Los NTs tienen diferentes especificidades en cuanto a su distribución tisular y los sustratos que transportan (**Tabla 10**).

Tabla 10. Localización tisular y sustratos de los ENTs y CNTs.

NT	Localización principal	Sustratos
ENT1	Ampliamente distribuido por todo el organismo (intestino, hígado, riñón, pulmón, corazón, eritrocitos, placenta, cerebro, etc.). * En membrana plasmática e intracelular (membrana mitocondrial).	Nucleósidos de purina y pirimidina.
ENT2	Ampliamente distribuido por todo el organismo (músculo esquelético).	Nucleósidos y nucleobases de purina y pirimidina.
ENT3	Ampliamente distribuido por todo el organismo. * Intracelular.	Nucleósidos de purina y pirimidina y adenina.
ENT4	Sistema nervioso central.	Monoaminas.
CNT1	Intestino delgado, hígado, riñón.	Nucleósidos de pirimidina y uridina y adenosina.
CNT2	Estómago, intestino delgado, colon, hígado, riñón.	Nucleósidos de purina y uridina.
CNT3	Tráquea, páncreas, glándulas mamarias, médula ósea, intestino, pulmón, hígado, testículo, próstata y placenta.	Nucleósidos de purina y pirimidina y uridina.

ENT: transportador de nucleósidos equilibrativo; CNT: transportador de nucleósidos concentrativo.

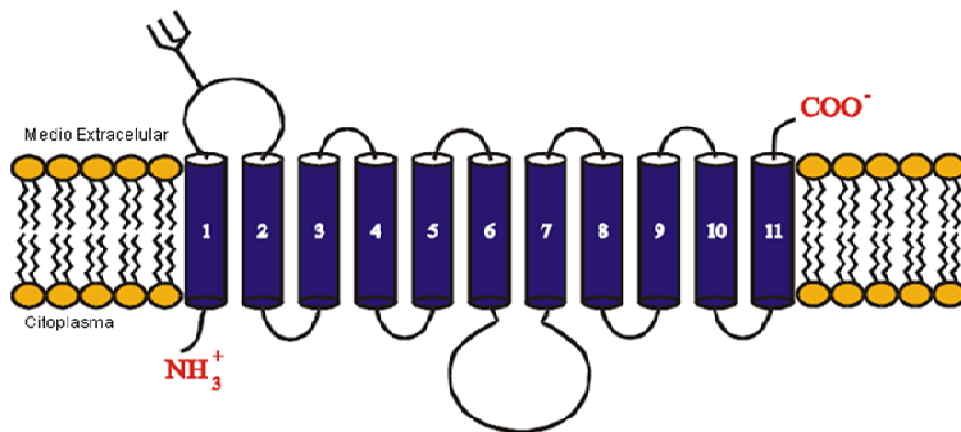
En estudios *in vitro* se ha demostrado que la RBV puede ser transportada por ENT1, ENT2, CNT2 y CNT3 (Yamamoto *et al.* 2007). La contribución de cada uno de ellos al transporte celular de RBV depende del tejido a considerar. La RBV es transportada principalmente por ENT1 en hepatocitos y eritrocitos, que son los principales compartimentos celulares en los que se acumula (Jarvis *et al.* 1998; Govindarajan *et al.* 2008; Endres *et al.* 2009; Ibarra *et al.* 2009; Fukuchi *et al.* 2010). A nivel del epitelio intestinal y renal, los CNTs están localizados en la membrana apical y los ENTs en la membrana basolateral, lo que sugiere la existencia de una cooperación entre CNTs y ENTs en el transporte de RBV a través de los epitelios (Mangravite *et al.* 2003;

Govindarajan *et al.* 2007). En los enterocitos, CNT2 es el principal responsable del transporte de RBV a través de la membrana apical (Patil *et al.* 1998), aunque un estudio reciente ha demostrado la participación de ENTs en presencia de altas concentraciones de RBV ($\geq 100 \mu\text{M}$) por saturación del CNT2 (Takaai *et al.* 2008).

La proteína ENT1 fue el primer ENT caracterizado (Griffiths *et al.* 1997). ENT1 es el NT que tiene la mayor distribución tisular y mayor variedad de sustratos y, a diferencia de ENT2, se caracteriza porque es inhibido por la nitrobenziltioinosina (NBMPR) en concentraciones nanomolares (Griffiths *et al.* 1997; Sundaram *et al.* 2001).

El gen *SLC29A1*, que codifica a la proteína ENT1, está localizado en el cromosoma 6p21.1-p21.2 y contiene 12 exones (Coe *et al.* 1997). Recientemente, se ha observado que la transcripción del gen *SLC29A1* está regulada por, al menos, 4 regiones promotoras alternantes, lo que genera un mínimo de 12 isoformas de ARNm con diferentes secuencias 5'UTR.

La proteína ENT1 tiene 456 aminoácidos y 11 dominios transmembrana alfa-hélice, con un extremo N-terminal interno y un extremo C-terminal externo y dos largos loops: uno extracelular glicosilado entre los dominios transmembrana 1 y 2 y uno citoplasmático entre los dominios transmembrana 6 y 7 (**Figura 11**) (Sundaram *et al.* 2001).

Figura 11. Estructura secundaria de ENT1.

Se han identificado varios aminoácidos en la proteína ENT1 que son responsables de la afinidad de ENT1 por sus sustratos; entre ellos, se encuentran los residuos G24, M33, M89, L92, G154, S160, G179 y N338 en los dominios transmembrana 1, 2, 4, 5 y 8 (SenGupta *et al.* 2002; Visser *et al.* 2002; Endres *et al.* 2004; SenGupta *et al.* 2004; Endres *et al.* 2005; Visser *et al.* 2005; Paproski *et al.* 2008; Zimmerman *et al.* 2009). El triplete PWN (P28, W29, N30) en el extremo N-terminal y los últimos 8 residuos del extremo C-terminal, son críticos para asegurar una correcta funcionalidad y localización de ENT1 en la membrana. Modificaciones de los aminoácidos de estas regiones dan lugar a una disminución de la expresión y/o funcionalidad de ENT1 (Nivillac *et al.* 2009).

Dado que ENT1 interviene en la absorción y excreción de la RBV, y lo que es más importante, en el acceso de la RBV al interior de los hepatocitos y eritrocitos, la expresión y/o funcionalidad de ENT1 podría afectar a la farmacocinética y/o a la actividad antiviral y/o toxicidad de la RBV. Así, en un estudio *in vitro*, Ibarra *et al.* demostraron que el efecto antiviral de la RBV contra el poliovirus en células de hepatoma está significativamente reducido en

presencia del inhibidor de ENT1 NBMPR 100 μ M (Ibarra *et al.* 2009). Endres *et al.*, en un estudio con ratones que expresaban ENT1 (ENT1 +/+) y que no expresaban ENT1 (ENT1 -/-), observaron que las concentraciones plasmáticas e intraeritrocitarias de RBV eran significativamente menores en los ratones ENT1 -/- que en los ratones ENT1 +/+ tras una administración oral e intravenosa de RBV, respectivamente (Endres *et al.* 2009).

Estos estudios confirman que la proteína ENT1 puede determinar la actividad antiviral de la RBV, por lo que sería de gran utilidad conocer los factores que pueden influir en la expresión y/o actividad de ENT1. Entre dichos factores, se encuentran los factores genéticos, es decir SNPs capaces de alterar la expresión y/o actividad de ENT1. Hasta la fecha, sólo dos trabajos han evaluado el impacto de SNPs en la actividad y/o expresión de ENT1. Osato *et al.* identificaron 2 variantes no sinónimas, I216T en el exón 6 y E391K en el exón 12, pero que no influenciaban la actividad de ENT1 *in vitro* (Osato *et al.* 2003). Myers *et al.* identificaron 2 haplotipos en individuos afroamericanos, “CAG” y “CGC”, formados por 3 SNPs en una región promotora de la región proximal 5' (-1345 C>G, -1050G>A y -706 G>C) en individuos afroamericanos. Estos dos haplotipos se asociaron con mayor expresión de ENT1 *in vitro* en comparación con el haplotipo común “CGG” (Myers *et al.* 2006).

3 OBJETIVOS

1. Estudio de la asociación entre las concentraciones plasmáticas valle de ribavirina en la semana 4 de tratamiento antiviral y la recidiva de la infección por VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC.

2. Estudio de la asociación entre distintos polimorfismos en el gen que codifica para la proteína de transporte de ribavirina ENT-1 (*SLC29A1*) y la respuesta virológica al tratamiento de la infección por VHC en pacientes VIH/VHC.

4 PACIENTES Y MÉTODOS

4.1 Pacientes

Los pacientes incluidos en el estudio se seleccionaron de forma retrospectiva de la base de datos de pacientes coinfectados VIH/VHC del Hospital Carlos III de Madrid desde el año 2004 hasta el año 2009.

Criterios de selección de los pacientes:

1. Criterios de selección comunes a los dos estudios.
 - Pacientes coinfectados VIH/VHC en seguimiento clínico en el Hospital Carlos III que iniciaron tratamiento del VHC con pegIFN-alfa 2a o 2b en dosis estándar (180 µg/semana o 1.5 µg/kg/semana) más RBV en dosis ajustada al peso (1000 mg/día si peso < 75 kg y 1200 mg/día si peso > 75 kg; aquellos pacientes con peso < 60 kg recibieron 800 mg/día). La duración del tratamiento fue de 48 semanas. Los pacientes con menos de 2 log de reducción en el ARN-VHC en semana 12 o ARN-VHC detectable en semana 24, interrumpieron el tratamiento de forma prematura y fueron considerados como no respondedores. Los pacientes que interrumpieron el tratamiento por otras razones que no fueran fracaso virológico (mala adherencia, efectos adversos, etc.) fueron excluidos del estudio.
 - Haber firmado el consentimiento para uso de muestras de ADN y de plasma, de acuerdo con las normas del Comité Ético del Hospital Carlos III.
 - Buena adherencia (>95%), corroborada por los registros de farmacia y el cuestionario clínico SMAQ (Knobel *et al.* 2002).

2. Criterios de selección específicos de cada estudio.

Estudio 1:

- Haber alcanzado respuesta virológica al final del tratamiento. Dichos pacientes fueron clasificados en 2 grupos: pacientes con respuesta virológica sostenida y pacientes con recidiva.
- Disponibilidad de muestras de plasma a lo largo del tratamiento para la cuantificación de concentraciones plasmáticas de RBV.

Estudio 2:

- Disponibilidad de muestras de plasma a lo largo del tratamiento y muestra de ADN para la cuantificación de concentraciones plasmáticas de RBV y genotipado de *SLC29A1*, respectivamente.

4.2 Parámetros farmacodinámicos

La carga viral del VHC se determinó por cuantificación del ARN viral (específicamente la región 5'UTR del ARN del VHC, que está altamente conservada) en plasma utilizando una técnica comercial de PCR a tiempo real (COBAS TaqMan 48, Roche, Barcelona, España), con un límite de detección de 10 UI/mL. La carga viral se cuantificó en el momento basal y en las semanas 4, 12, 24 y 48, así como a las 24 semanas después de haber terminado el tratamiento.

Para evaluar la respuesta al tratamiento del VHC, se examinaron diferentes parámetros farmacodinámicos:

- Respuesta virológica rápida (RVR): ARN-VHC indetectable en la semana 4 de tratamiento.

- Respuesta virológica temprana (RVT): ARN-VHC indetectable o caída del ARN-VHC superior a 2 logaritmos en la semana 12 de tratamiento.
- Respuesta virológica al final del tratamiento (RVFT): ARN-VHC indetectable al finalizar el tratamiento.
- Respuesta virológica sostenida (RVS): ARN-VHC indetectable a las 24 semanas después de haber finalizado el tratamiento.
- Recidiva: ARN-VHC detectable durante las 24 semanas después de haber terminado tratamiento con ARN-VHC indetectable (RVFT).

4.3 Parámetros farmacocinéticos

Las concentraciones plasmáticas valle de RBV (C_{valle} RBV) se cuantificaron en las semanas 4, 12, 24, 36 y 48 de terapia. Las muestras de sangre se extrajeron en tubos Vacutainer con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) a primera hora de la mañana justo antes de la toma de la primera dosis de RBV del día. La separación del plasma de la sangre total se realizó seguidamente después de la extracción de sangre, dejando pasar un máximo de 1 hora para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos, por centrifugación a 2.000 rpm durante 30 minutos. Seguidamente, el plasma se recogió y se mantuvo a -20°C hasta su uso.

Las C_{valle} RBV se cuantificaron utilizando un método de HPLC con detector ultravioleta (HPLC-UV; Merck-Hitachi LaChrom, Tokio, Japón) previamente validado y publicado (Morello *et al.* 2007).

La validación del método se realizó de acuerdo con las normas de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y se resume a continuación:

- Especificidad. Los componentes del plasma o los antirretrovirales no interfirieron con el pico de la RBV. El tiempo de retención de la RBV fue de $5,9 \pm 0,10$ minutos.
- Linealidad. El rango de linealidad fue de 0.05 a 5 $\mu\text{g/mL}$ con un coeficiente de regresión de $r^2=0,997$. Los límites de cuantificación y de detección fueron de 0,05 y 0,025 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.
- Precisión. Los coeficientes de variación intradía (reproducibilidad) e interdía (repetitibilidad) del método oscilaron entre 0,9 y 3,5 y 0,4 y 1,4, respectivamente.
- Recuperación. El coeficiente de extracción fue del 91,4% (CV 3,9).

La RBV fue extraída del plasma siguiendo un método de extracción en fase sólida o ultrafiltración. Se transfirieron 500 μL de muestra a una columna Microsep 3K Omega. Seguidamente, las columnas fueron centrifugadas a $7.500 \times g$ durante 90 minutos para retener todas aquellas partículas de tamaño entre 10.000 y 20.000 kDa en la membrana de la columna y permitir el paso de aquéllas más pequeñas como la RBV. El filtrado obtenido se conservó entre 2-8°C hasta su inyección en la columna cromatográfica.

Las condiciones cromatográficas del método se describen a continuación:

- Fase estacionaria. La separación cromatográfica se realizó utilizando una columna Purospher STAR RP-18 5 μm (150 mm de longitud X 4,6 mm de diámetro interno; Merck) protegida por una guarda

columna Purospher STAR RP-18 5 μm (4 mm de longitud X 4 mm de diámetro interno; Merck). La temperatura del compartimento de la columna fue de 10°C

- Fase móvil. Se utilizó una fase móvil en gradiente compuesta por acetonitrilo y tampón KH_2PO_4 50 mM ajustado con ácido ortofosfórico hasta un pH de 3,5 y finalmente filtrado a través de una membrana de 0,45 μm (Whatman, Maidstone, Reino Unido) antes de ser usado (**Tabla 11**). El flujo de la fase móvil fue constante de 1,2 mL/min.

Tabla 11. Gradiente de la fase móvil.

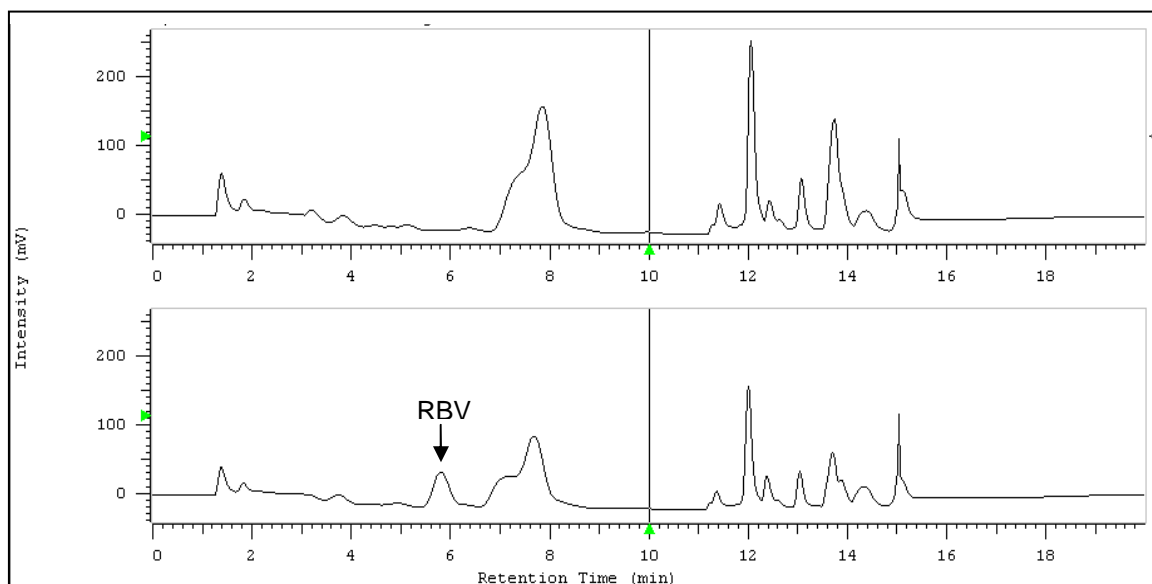
Tiempo (min)	Acetonitrilo (%)	Tampón KH_2PO_4 (%)
0	0	100
6,5	0	100
10,1	15	85
13,9	15	85
15	0	100
20	0	100

- Inyección de la muestra extraída. El volumen de inyección de muestra fue de 100 μL .
- Detector UV. La longitud de onda seleccionada para la detección de la RBV fue de 207 nm.

Las concentraciones de RBV se cuantificaron por extrapolación del área del pico de RBV de cada muestra en una recta de calibración concentración-área de muestras de concentraciones conocidas de RBV de 0,05 0,1 0,5 1,0 y 5,0 $\mu\text{g/mL}$. Los estándares de la recta de calibración se prepararon por dilución de una solución de sustancia pura de RBV (proporcionada por Laboratorios Roche

Farma) de 1 mg/mL en metanol con plasma libre de fármacos de donantes sanos (Banco de Sangre, Comunidad de Madrid). En cada análisis se procesaron una muestra blanco y tres controles internos de concentraciones 5 (control alto) 0,5 (control medio) y 0,05 (control bajo) $\mu\text{g/mL}$ para controlar la calidad analítica de la técnica. La **Figura 12** representa un cromatograma de plasma blanco y un cromatograma de plasma con RBV.

Figura 12. Cromatograma blanco y cromatograma de RBV.



4.4 Parámetros farmacogenéticos

Se seleccionaron todos aquellos SNPs en el gen *SLC29A1* con frecuencias alélicas $\geq 0,2$ en población Caucásica utilizando la base de datos genéticos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI). Con este criterio, se identificaron 5 SNPs: rs1057985C>T, rs9394992C>T, rs324148C>T,

rs324149C>T y rs760370A>G. La frecuencia alélica y la localización de cada uno de ellos en el gen *SLC29A1* se describe en la **Tabla 12**.

Tabla 12. SNPs seleccionados en el gen *SLC29A1*.

	rs1057985C>T	rs9394992C>T	rs324148C>T	rs324149C>T	rs760370A>G
Región del gen <i>SLC29A1</i>	Próxima a región 5'	Intrón 2	Intrón 2	Intrón 2	Intrón 12
Frecuencia alélica	0.32	0.32	0.29	0.24	0.35

La extracción del ADN celular se realizó a partir de sangre periférica utilizando los reactivos y protocolos de QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen).

El análisis genotípico se realizó por técnicas de PCR cuantitativa a tiempo real de discriminación alélica con sondas TaqMan[®] (Applied Biosystems) siguiendo los protocolos establecidos por el fabricante. Brevemente, la mezcla para la reacción de PCR contenía 12.5 µL TaqMan[®] genotyping Master Mix + 0.625 40X Assay Mix (cebadores + sondas) + 9.9 µl H₂O + 2 µL ADN (equivalente a 1-20 ng ADN) por muestra. Las condiciones de la reacción de PCR se detallan en la **Tabla 13** y las secuencias de los cebadores y sondas se recogen en la **Tabla 14**.

Tabla 13. Condiciones de la reacción de PCR.

Inicio	Desnaturalización	Hibridación / Elongación
	40 CICLOS	
10 min 95°C	15 seg 92°C	1 min 60°C

Tabla 14. Secuencias de los cebadores y sondas.

SNP	Cebadores	Sonda VIC	Sonda FAM
rs1057985C>T	5'-TGAGTGCTGGGCTTTGCA-3' 5'TTCCAGACTCAGGACCTACCTTAAA-3'	5'-CCTCCATAGGCAACTC-3'	5'-CCTCCATAAGCAACTC-3'
rs9394992C>T	5'-GCTCTCCTGTGGGCAGTTC-3' 5'-GCTGTGCAATAAGGCAAATGGA-3'	5'-CCGGCGAGGCCT-3'	5'-CCGGCAAGGCCT-3'
rs324148C>T	5'-CCCTGGGTGGTATGAACTACAAA-3' 5-GGGCCGCTGTGAAGAGA-3'	5'CTTAGAGCCGTTTTCTT-3'	5'-CTTAGAGCCATTTTCTT-3'
rs324149C>T	5'-CCCACACCCATAAGAGGACAC-3' 5'-GGGCACAGGGCGTCT-3'	5'-TGTTTGTGTCCGTTTGCAT-3'	5'-TGTTTGTGTCCATTTGCAT-3'
rs760370A>G	5'-TGGGTGGAGGTGGAGACA-3' 5'-CCTTGAGGGAACGTGTATGGT-3'	5'-CTCCTTCCTGCAAACC-3'	5'-CCTTCCCGCAAACC-3'

4.5 Otros parámetros clínicos

Carga viral del VIH. La carga viral del VIH se determinó en el momento basal por cuantificación del ARN viral en plasma utilizando una técnica comercial de bDNA (branched DNA assay; Versant VIH-1 RNA v3.0 Siemens, Barcelona, España) con un límite de detección de 50 copias de ARN-VIH/mL.

Recuento de linfocitos T CD4+. Los linfocitos T CD4+ se cuantificaron por citometría de flujo (FC 500; Beckman Coulter, Fullerton, CA). La sangre total fue tratada con el kit comercial IMMUNOPREP (Beckman-Coulter, Miami, FL), que rompe los glóbulos rojos, estabiliza los leucocitos y fija la membrana celular. A continuación, la muestra se incubó con el anticuerpo monoclonal CD4-Rd1-PE (tetraCHROME SFC112T4D11; Beckman-Coulter, Miami, FL). El resultado se expresó en forma de cifra absoluta de células/ μ L de sangre y como porcentaje respecto al total de linfocitos.

Genotipo VHC. El genotipo del VHC se determinó en plasma utilizando una técnica comercial de hibridación inversa (Versant HCV Genotype 2.0 LiPA assay, Siemens, Barcelona, España). Este ensayo emplea el producto ADN generado por la amplificación de RT-PCR de las regiones 5'UTR y core del ARN del VHC, que se hibrida con sondas de oligonucleótidos inmovilizadas en una tira de nitrocelulosa específicas de las regiones 5'UTR y core de los diferentes genotipos del VHC.

Fibrosis hepática. El grado de fibrosis hepática se estimó mediante elastometría de transición (FibroScan® Echosens, Paris, Francia), un método

de imagen no invasivo que utiliza vibración de baja frecuencia y ultrasonidos para medir la elasticidad hepática. En cada adquisición, el aparato mide la velocidad de propagación de la onda elástica en el hígado, la cual está relacionada con el grado de fibrosis hepática. A mayor velocidad de propagación, menor elasticidad del tejido. Para cada paciente, se realizan al menos 5 adquisiciones y el resultado final es la mediana de todas las medidas realizadas en kPa (**Figura 13**). La elastometría de transición ha sido validada y aprobada para estimar la fibrosis hepática en pacientes con infección VHC y coinfección VIH/VHC (de Ledinghen *et al.* 2006; Macias *et al.* 2008) La **Tabla 15** describe la correlación entre la medida de la elasticidad hepática medida con FibroScan y los distintos estadios de fibrosis obtenidos con biopsia según la escala METAVIR. La fibrosis hepática avanzada (fibrosis severa y cirrosis) se definió como rigidez del hígado ≥ 9.5 kPa, que corresponde con un estadio \geq F3 en la escala Metavir (Castera *et al.* 2005).

Figura 13. Elastometría de transición.

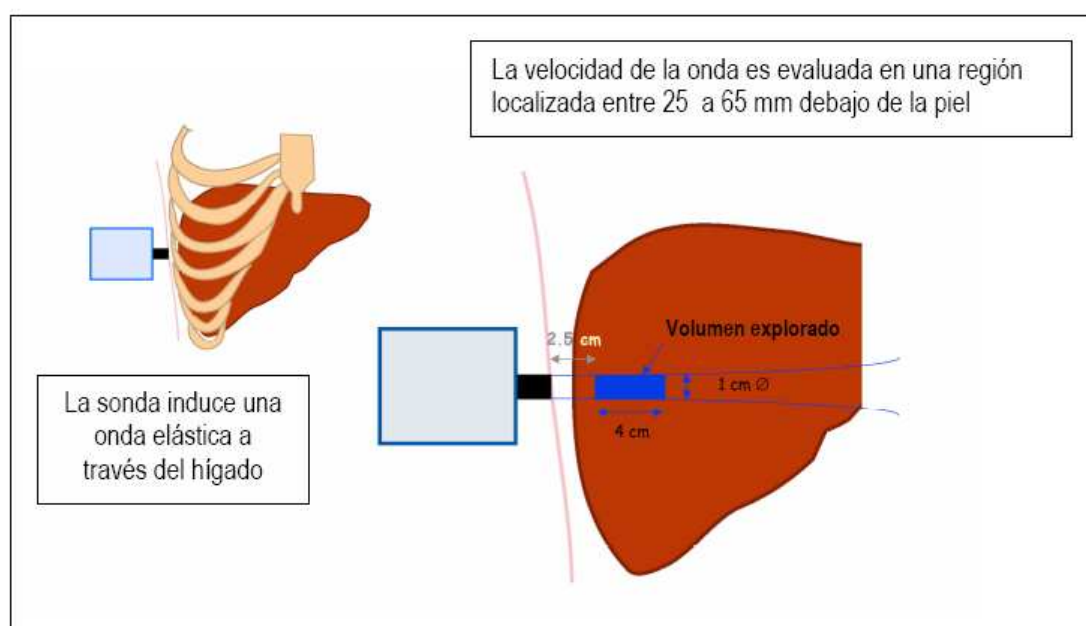


Tabla 15. Clasificación de la fibrosis hepática y equivalencias entre el método Metavir y FibroScan.

FIBROSIS	METAVIR	FIBROSCAN (kPa)
Ausente	F0	< 7,0
Mínima	F1	
Moderada	F2	7,1 - 9,4
Severa	F3	9,5 - 12,5
Cirrosis	F4	> 12,5

4.6 Análisis estadísticos

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 13 (SPSS Inc., Chicaco, IL, EEUU). Todos los valores de p fueron de dos colas y se consideraron estadísticamente significativos cuando eran inferiores a 0.05. Mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov se comprobó que la mayoría de las variables del estudio no seguían una distribución normal por lo que se decidió emplear pruebas no paramétricas para los distintos análisis realizados. Las principales características de la población de estudio y los diferentes parámetros evaluados se expresaron en valores absolutos y porcentajes en el caso de variables cualitativas, y en mediana y rango intercuartílico (IQR) en el caso de variables cuantitativas. Las variables cualitativas se compararon con el test chi-cuadrado o test exacto de Fischer según correspondiera. Las variables cuantitativas se compararon con el test U-Mann Whitney. Las curvas ROC (Receiver Operating Characteristic) se utilizaron para calcular los valores de sensibilidad y especificidad para la C_{valle} RBV a los cuales la recidiva era más probable de ocurrir. Para analizar la influencia de distintos factores sobre las concentraciones plasmáticas de RBV, se realizaron análisis de regresión lineal. Para analizar la influencia de distintos factores sobre la respuesta virológica se

realizaron análisis de regresión logística. Todas aquellas variables que en los análisis bivariantes quedaron con valor de $p < 0.2$ fueron incluidas en el análisis multivariante modo step backward.

5 RESULTADOS

5.1 Estudio 1: Estudio de la asociación entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina y la recidiva al tratamiento del VHC

5.1.1 Características basales de la población de estudio.

Se incluyó un total de 99 pacientes coinfectados VIH/VHC con respuesta virológica al final del tratamiento. Estos pacientes representaron el 62% de toda la base de datos de pacientes que iniciaron tratamiento durante el período del estudio. Las características basales de los 99 individuos están recogidas en la **Tabla 16**. La mediana (IQR) de edad era 42 (39-46) años, el 68% de los pacientes eran varones y todos los pacientes menos uno eran de raza Caucásica. El 63% de los pacientes tenían ARN-VHC basal ≥ 600.000 UI/mL, el 60% estaban infectados por genotipos VHC 1 ó 4 y el 43% presentaba fibrosis avanzada (metavir F3F4). La dosis de RBV más prescrita fue de 1000 mg (52%) y el tipo de pegIFN-alfa más prescrito fue pegIFN-alfa 2a (78%). Un total de 6 pacientes (6%) había fracasado previamente a un tratamiento del VHC subóptimo con pegIFN-alfa y bajas dosis de RBV. El 50% de ellos había recidivado y el otro 50% había fracasado durante el tratamiento. Finalmente, el 82% de los pacientes recibía tratamiento antirretroviral de forma concomitante y el 77% presentaba carga viral del VIH indetectable (< 50 copias/mL).

Tabla 16. Características basales de los 99 pacientes coinfectados VIH/VHC.

Variable	Valor
Edad (años)	42 (39-46)
Sexo masculino, n (%)	67 (68)
Raza Caucásica, n (%)	87 (1)
Genotipo VHC	
1	54 (55)
2	1 (1)
3	39 (39)
4	5 (5)
Fibrosis hepática avanzada, n (%)	43 (43)
Carga viral VHC (log UI/mL)	6.0 (5.4-6.5)
Carga viral VHC \geq 600.000 UI/mL, n (%)	62 (63)
Dosis RBV (mg/día), n (%)	
1200	23 (23)
1000	51 (52)
800	25 (25)
Tipo PegIFN-alfa, n (%)	
2a	77 (78)
2b	22 (22)
Retratamiento VHC, n (%)	6 (6)
Tratamiento antirretroviral, n (%)	81 (82)
ITIAN	
Abacavir	30 (30)
Emtricitabina	19 (19)
Estavudina	10 (10)
Lamivudina	48 (48)
Tenofovir	48 (48)
Zidovudina	16 (16)
ITINAN	
Efavirenz	21 (21)
Nevirapina	10 (10)

Continuación Tabla 16.

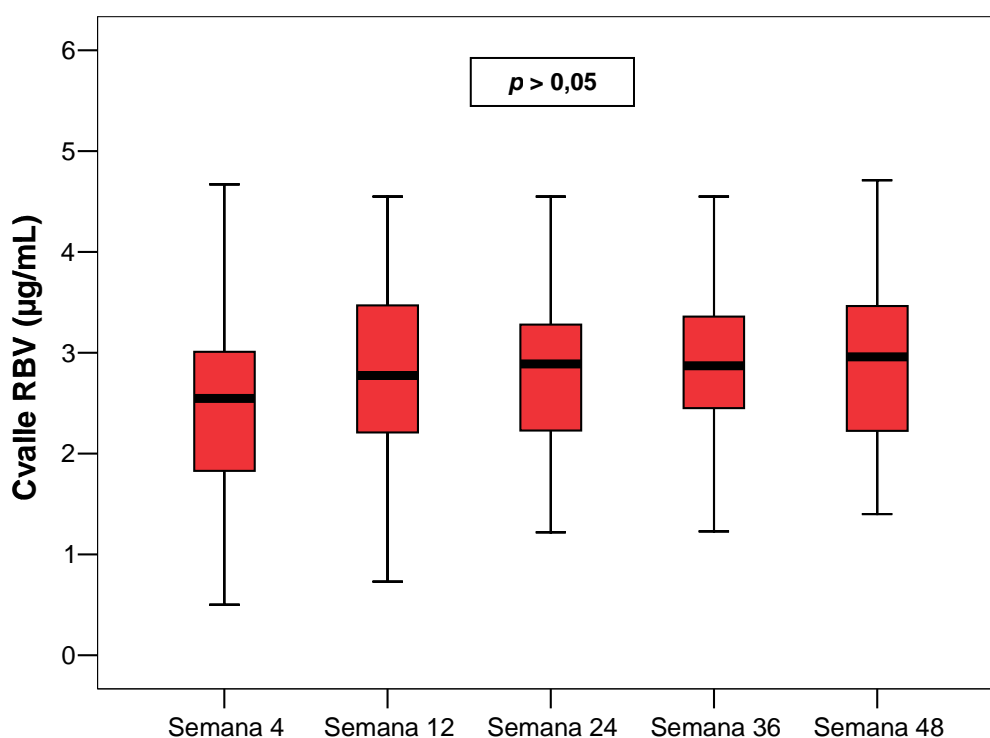
Variable	Valor
IPs	
Amprenavir/r	1 (1)
Atazanavir	15 (15)
Atazanavir/r	6 (6)
Indinavir/r	1 (1)
Lopinavir/r	11 (11)
Nelfinavir	1 (1)
Saquinavir/r	2 (2)
Carga viral VIH < 50 copias/mL, n (%)	76 (77)
Recuento de CD4 (células/ μ L)	527 (391-700)

PegIFN: interferón pegilado; RBV: ribavirina; ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido; IPs: inhibidores de la proteasa.

5.1.2 Concentraciones plasmáticas de RBV

En la **Figura 14** se representa la C_{valle} de RBV en semanas 4, 12, 24, 36 y 48. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la C_{valle} de RBV entre las diferentes semanas de tratamiento.

La mediana de la C_{valle} de RBV en semana 4 fue de 2,5 (1,8-3,0) μ g/mL. El coeficiente de variabilidad interindividual de la C_{valle} de RBV en semana 4 fue del 40% y el coeficiente de variabilidad intraindividual de la C_{valle} de RBV a lo largo del tratamiento fue del 17% (10%-25%).

Figura 14. Concentración valle de RBV en semanas 4, 12, 24, 36 y 48 de tratamiento.

Se evaluó el impacto de los factores del paciente sobre la C_{valle} RBV en semana 4. Las variables que se incluyeron en la regresión lineal fueron la edad, sexo, fibrosis avanzada y los fármacos antirretrovirales concomitantes. El aclaramiento de creatinina no se incluyó en el análisis porque todos los pacientes presentaban concentraciones de creatinina normales (0,5 – 1,5 mg/dL). Las variables que se asociaron de forma independiente con la C_{valle} RBV en semana 4 fueron el sexo (β : -0,53, IC95% [-0,95 – -0,11], $p = 0,015$), el uso concomitante de emtricitabina (β : -0,55, IC95% [-1,1 – -0,01], $p=0,045$) y el uso concomitante de inhibidores de la proteasa no potenciados con ritonavir (β : -0,8, IC95% [-1,4 – -0,18], $p=0,012$) (**Tabla 17**).

Tabla 17. Regresión lineal de los factores asociados con la concentración valle de RBV en semana 4.

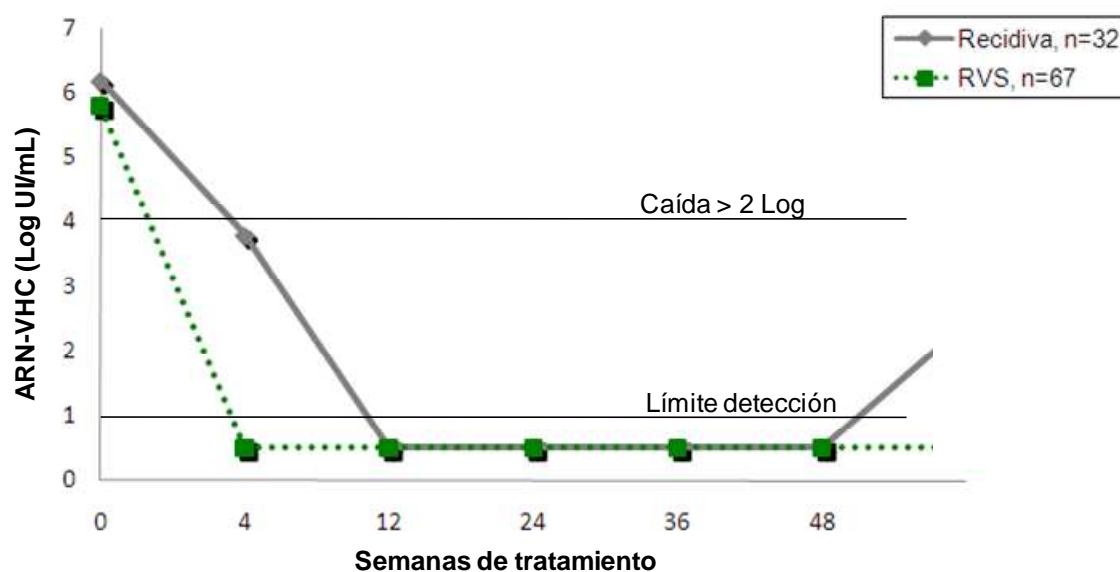
	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	β (IC95%)	<i>p</i>	β (IC95%)	<i>P</i>
Edad (por año)	-0,04 (-0,09 – 0,004)	0,073	-0,03 (-0,07 – 0,01)	0,14
Sexo masculino	-0,46 (-0,9 – 0,02)	0,042	-0,53 (-0,95 – -0,11)	0,015
Fibrosis avanzada	0,28 (-0,21 – 0,78)	0,25	-	-
Dosis de RBV (por mg)	0,001 (-0,001 – 0,002)	0,68	-	-
Abacavir	0,11 (-0,35 – 0,57)	0,63	-	-
Didanosina	0,05 (-0,65 – 0,75)	0,89	-	-
Emtricitabina	-0,79 (-1,3 – -0,26)	0,004	-0,55 (-1,1 – -0,01)	0,045
Lamivudina	0,2 (-0,22 – 0,63)	0,35	-	-
Tenofovir	-0,25 (-0,67 – 0,17)	0,24	-	-
Zidovudina	0,69 (0,12 – 1,2)	0,017	0,42 (-0,12 – 0,96)	0,13
ITINANs	-0,19 (-0,65 – 0,25)	0,38	-	-
IPs no potenciados	-0,86 (-1,5 – -0,24)	0,007	-0,8 (-1,4 – -0,18)	0,012
IPs potenciados	-0,02 (-0,55 – 0,5)	0,93	-	-

5.1.3 Respuesta virológica

De los 99 pacientes con RVFT incluidos en el estudio, 67 (68%) alcanzaron RVS, mientras que 32 (32%) recidivaron durante las 24 semanas después de terminar tratamiento con ARN-VHC indetectable (< 10 UI/mL).

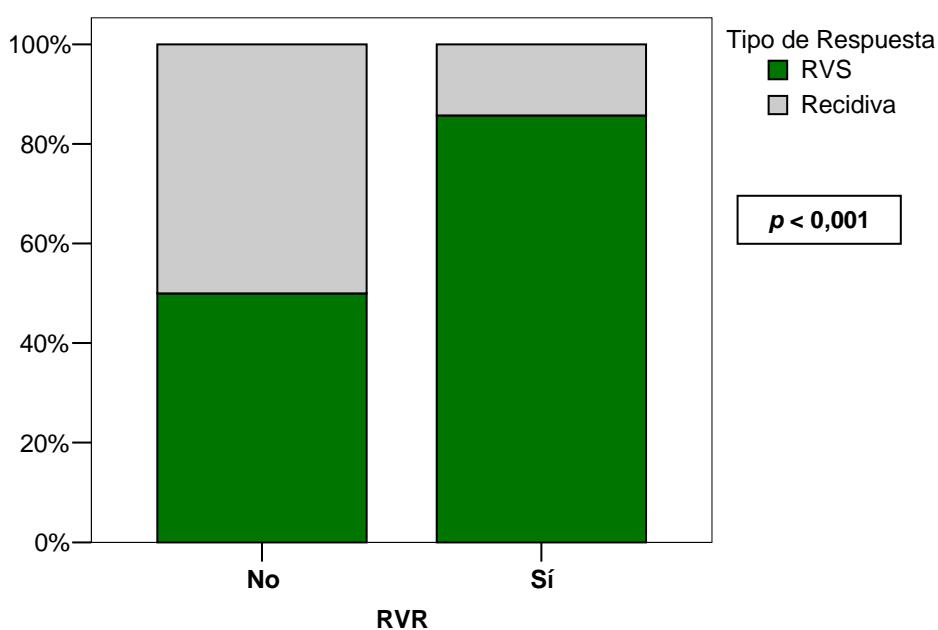
La **Figura 15** representa la evolución de la mediana del ARN-VHC a lo largo del tratamiento en los pacientes que recidivaron y los pacientes que alcanzaron RVS.

Figura 15. Representación de la cinética viral de los pacientes del estudio con recidiva (n=32) y respuesta virológica sostenida (n=67).



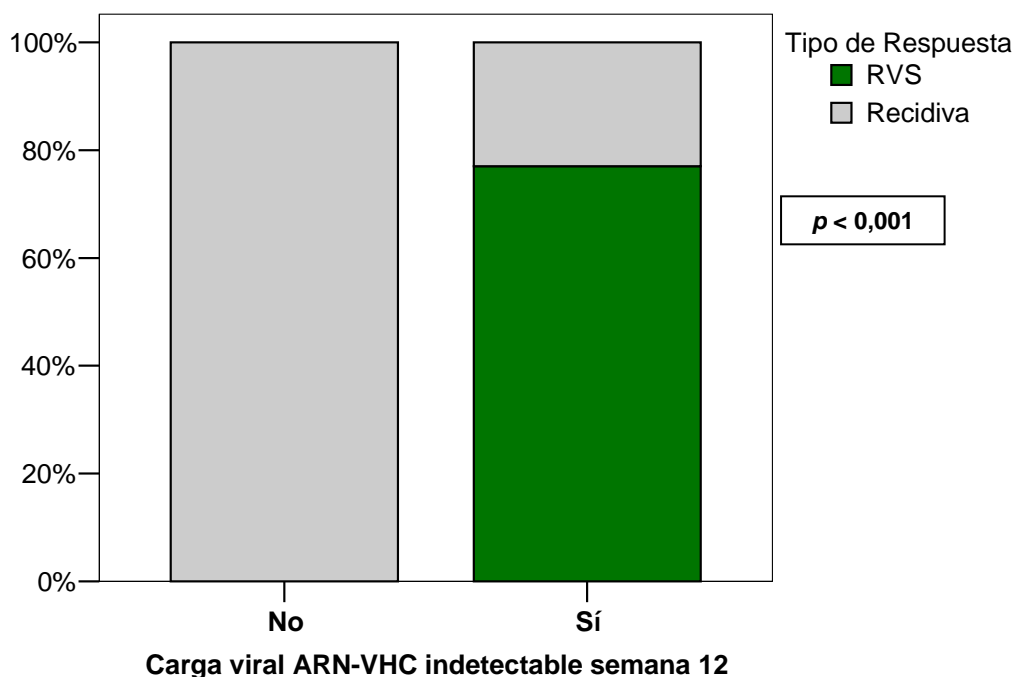
Un total de 50 pacientes (50%) alcanzó RVR en semana 4. El 86% de los pacientes que tuvieron RVR alcanzaron RVS, en comparación con el 50% de los pacientes que no tuvieron RVR ($p < 0,001$) (**Figura 16**).

Figura 16. Porcentajes de pacientes con RVS y recidiva según alcanzaran o no RVR.



Todos los pacientes alcanzaron RVT en semana 12 (caída ARN-VHC > 2 log), pero sólo 87 pacientes (88%) consiguieron ARN-VHC indetectable en semana 12 (<10 UI/mL). El 77% de los 87 pacientes que consiguieron ARN-VHC indetectable en semana 12, alcanzaron RVS, en comparación con el 0% de los pacientes que no consiguieron ARN-VHC indetectable en semana 12 ($p < 0,001$) (Figura 17).

Figura 17. Porcentajes de pacientes con RVS y recidiva según alcanzaran o no ARN-VHC indetectable en semana 12 de tratamiento.

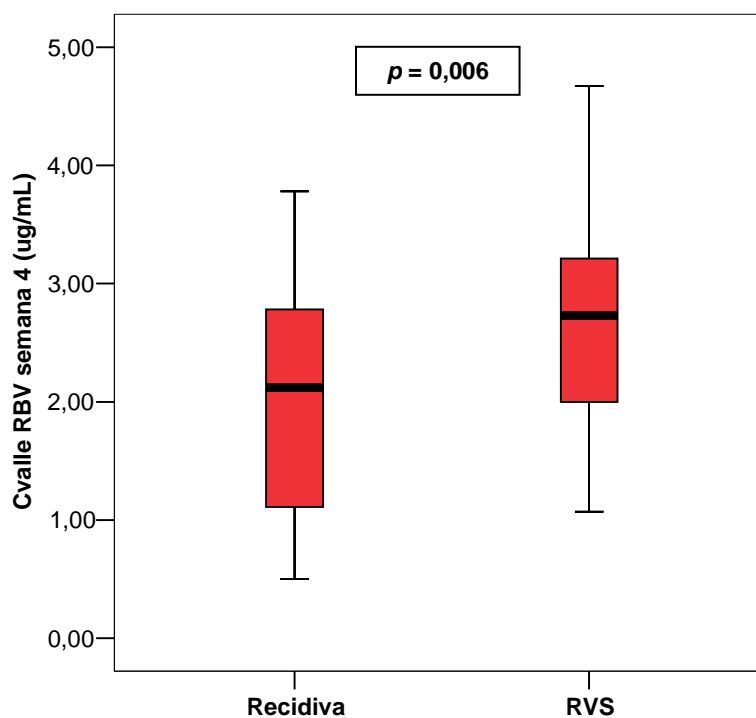


5.1.4 Predictores de la recidiva del VHC

La mediana de la C_{valle} RBV en la semana 4 de tratamiento fue significativamente mayor en los pacientes con RVS que en los pacientes que recidivaron (2,7 [1,9-3,2] vs. 2,1 [1,1-2,8] $\mu\text{g/mL}$, $p=0,006$) (Figura 18). La media de la C_{valle} RBV a lo largo del tratamiento también mostró una tendencia

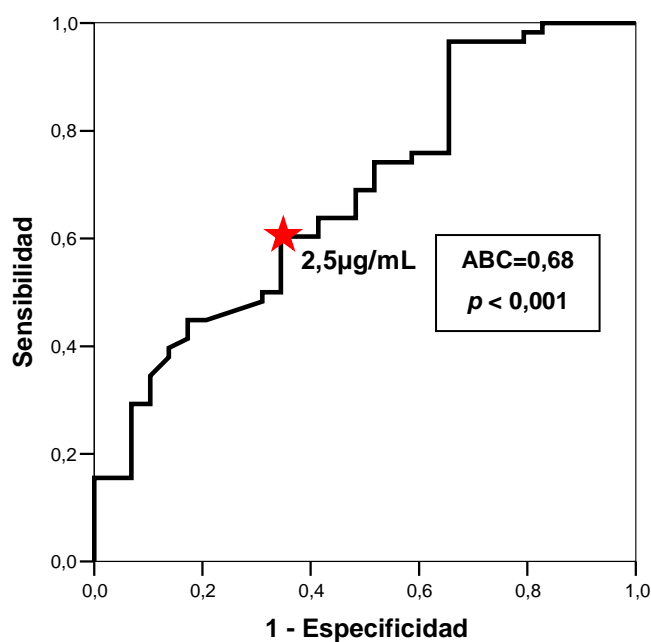
a ser mayor en los pacientes con RVS que en los pacientes que recidivaron (2,9 [2,1-2,3] vs. 2,5 [1,8-3,1], $p=0,08$).

Figura 18. Concentración valle de RBV en semana 4 en pacientes con recidiva y en pacientes con RVS.



El mejor punto de corte de C_{valle} RBV en semana 4 que discriminaba entre la RVS y la recidiva fue de 2,5 µg/mL, con un 60% de sensibilidad y un 66% de especificidad, área bajo la curva=0,68, $p=0,007$ (**Figura 19**).

Figura 19. Curva ROC con los valores de sensibilidad y especificidad para cada posible punto de corte de concentración valle de RBV en semana 4 para predecir la recidiva del VHC.



ABC = área bajo la curva

Se realizaron regresiones logísticas para evaluar las variables que predecían la recidiva del VHC. Las variables que se incluyeron en el análisis fueron la edad, sexo, fibrosis avanzada (F3F4), dosis de RBV, C_{valle} RBV < 2,5 µg/mL en semana 4, genotipos VHC 1 ó 4, carga viral basal, previa exposición al tratamiento del VHC y los fármacos antirretrovirales concomitantes. En la

Tabla 18 se resumen los datos de los análisis bivalente y multivariante. Los predictores independientes de recaer al tratamiento del VHC en el análisis multivariante fueron: alcanzar C_{valle} de RBV en semana 4 < 2,5 µg/mL (OR: 4,5, IC95% [1,3-15,5], $p=0,018$), tener genotipos VHC 1 ó 4 (OR: 13,3, IC95% [2,6-66,7], $p=0,002$) y la carga viral basal (OR: 2,5, IC95% [1,2-5,1], $p=0,015$).

Tabla 18. Principales predictores de la recidiva del VHC.

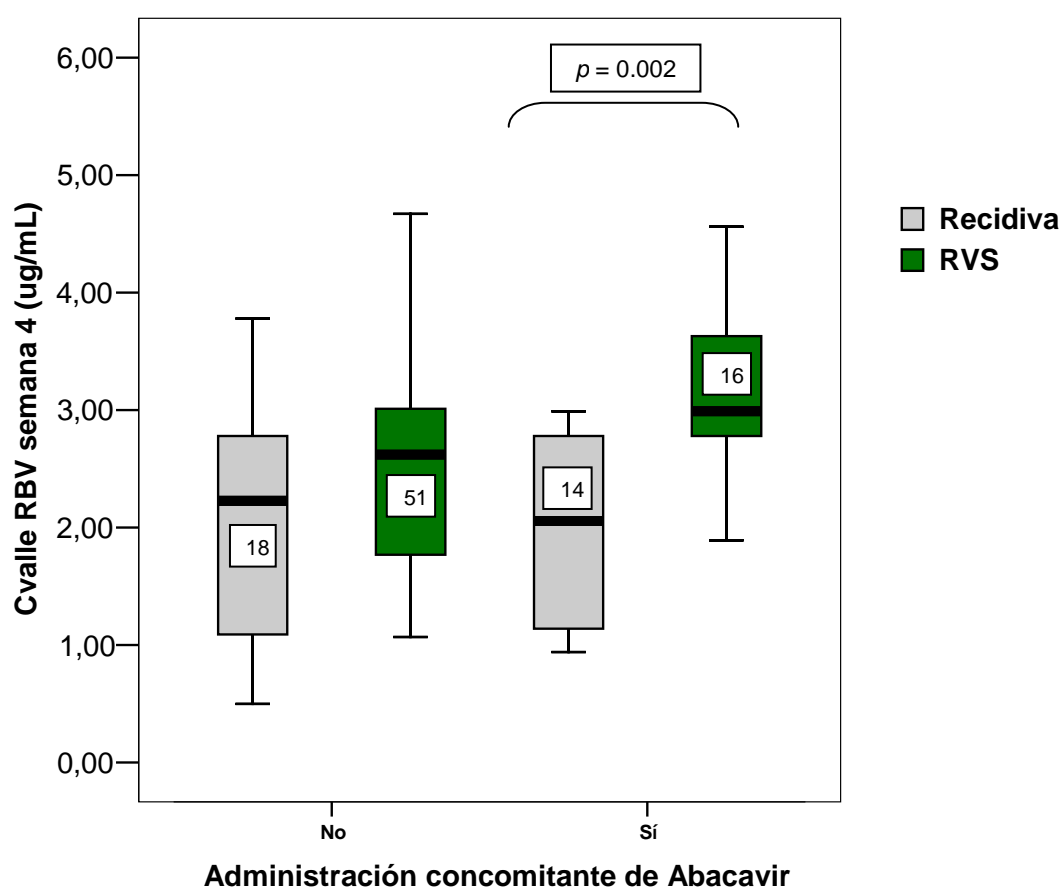
	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC95%)	<i>p</i>	OR (IC95%)	<i>p</i>
Edad (por año)	0,97 (0,9-1,1)	0,56	-	-
Sexo masculino	1,1 (0,5-2,8)	0,76	-	-
Fibrosis avanzada	0,44 (0,1-1,8)	0,26	-	-
Dosis de RBV 800 mg	0,99 (0,9-1,0)	0,62	-	-
C_{valle} RBV <2,5 µg/mL	2,89 (1,1-7,3)	0,025	4,5 (1,3-15,5)	0,018
Genotipos VHC 1/4	5,9 (2,0-17,2)	0,001	13,3 (2,6-66,7)	0,002
Carga viral basal (por log UI/mL)	2,1 (1,1-3,9)	0,022	2,5 (1,2-5,1)	0,015
Tratamiento previo VHC	2,2 (0,4-11,6)	0,35	-	-
Tratamiento antirretroviral concomitante	2,8 (0,7-10,4)	0,128	0,87 (4,8-0,16)	0,87
Abacavir concomitante	2,5 (1,0-6,1)	0,047	3,3 (0,91-11,9)	0,07

La administración concomitante de abacavir influyó en el análisis bivariante de forma estadísticamente significativa; el 47% de los pacientes que tomaban abacavir recidivó comparado con sólo el 26 % de los pacientes que no tomaba abacavir ($p=0,044$). Sin embargo, dicha asociación se perdió en el análisis multivariante (tendencia, con una $p=0,07$).

Se analizó el efecto de la C_{valle} RBV en la recidiva del VHC dividiendo a los pacientes según tomaran o no abacavir. Se observó que en el grupo de pacientes que tomaban abacavir, recidivaban más pacientes y éstos eran los que tenían las C_{valle} RBV más bajas. La mediana de C_{valle} RBV en los pacientes que tomaban abacavir y recidivaban era de 2,0 [1,1-2,8] µg/mL en comparación con 2,9 [2,7-3,8] µg/mL en los pacientes que tomaban abacavir y no recidivaban ($p=0,002$) (**Figura 20**). Debido a esta interacción entre la

administración de abacavir y la C_{valle} RBV, el impacto del uso de abacavir sobre la recidiva del VHC no alcanzó significación estadística en el análisis multivariante.

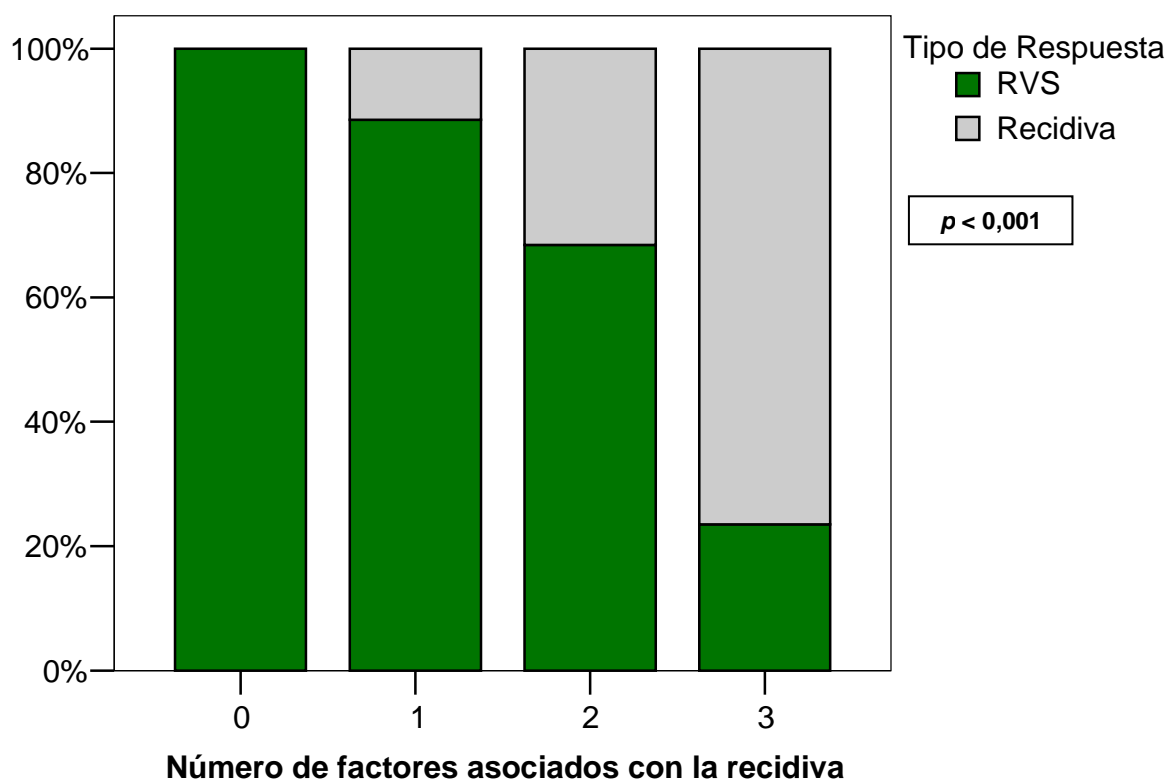
Figura 20. Concentración valle de RBV en semana 4 en pacientes con recidiva y RVS según tomaran o no Abacavir.



Por último, se analizó el impacto de la combinación de las tres variables que predecían independientemente la recidiva del VHC (genotipos VHC 1 ó 4, ARN-VHC basal ≥ 600.000 UI/mL y C_{valle} RBV en semana 4 $< 2,5$ $\mu\text{g/mL}$) sobre la respuesta al tratamiento del VHC. La distribución de los pacientes según el número de factores fue la siguiente: 18 pacientes (18%) tenían los 3 factores,

40 pacientes (41%) 2 factores, 38 pacientes (38%) 1 factor y 3 pacientes (3%) 0 factores. Si consideráramos tener los 3 factores para predecir la recidiva, los valores predictivos positivo y negativo eran del 76% y 78%, respectivamente ($p < 0,001$) (**Figura 21**).

Figura 21. Porcentajes de pacientes con RVS y recidiva según número de factores asociados con la recidiva (genotipos VHC 1 ó 4, ARN-VHC basal ≥ 600.000 UI/mL y concentración valle de RBV en semana 4 $< 2,5$ $\mu\text{g/mL}$).



5.2 Estudio 2: Estudio de la asociación entre polimorfismos genéticos en el gen del transportador de la Ribavirina ENT1 (SL29A1) y la respuesta al tratamiento del VHC

5.2.1 Características basales de la población de estudio

Se incluyó un total de 160 pacientes coinfectados VIH/VHC tratados con pegIFN-alfa y RBV. Las características basales de la población se resumen en la **Tabla 19**. La mediana de edad era de 43 (39-45) años, el 71% eran varones y el 97% eran Caucásicos. El 66% de los pacientes tenían ARN-VHC basal alta (≥ 600.000 UI/mL), el 68% estaban infectados por genotipos 1 ó 4 y el 48% presentaban fibrosis avanzada (Metavir F3F4). La dosis de RBV más prescrita fue de 1000 mg (52%) y el tipo de pegIFN-alfa más prescrito fue pegIFN-alfa 2a (69%). Un total de 16 pacientes (9%) habían fracasado previamente a un tratamiento de VHC subóptimo con monoterapia IFN-alfa (n=1), IFN + RBV en dosis bajas (n=1) o pegIFN + RBV en dosis bajas (n=14). De estos 16 pacientes, 2 pacientes (12%) habían recidivado y 14 (88%) habían fracasado durante el tratamiento. Finalmente, el 85% de los pacientes recibía tratamiento antirretroviral de forma concomitante y el 78% presentaba carga viral ARN-VIH indetectable (< 50 copias/mL).

Tabla 19. Principales características basales de los pacientes totales del estudio y dividido por genotipos virales.

Variables	Total N=160	Genotipos 1/4 N=109	Genotipos 2/3 N=51
Edad (años)	43 (39-45)	42 (39-45)	43 (41-46)
Sexo masculino, n (%)	113 (71)	86 (79)	27 (53)
Raza Caucásica, n (%)	155 (97)	104 (95)	51 (100)
Genotipo VHC			
1	91 (57)	91 (83)	-
2	1 (1)	-	1 (2)
3	50 (31)	-	50 (98)
4	18 (11)	18 (17)	-
Fibrosis hepática avanzada, n (%)	77 (48)	48 (44)	29 (57)
Carga viral VHC (log UI/mL)	6,1 (5,5-6,7)	6.3 (5.5-6.8)	6,0 (5,7-6,6)
Carga viral VHC \geq 600.000 UI/mL, n (%)	106 (66)	71 (65)	35 (69)
Dosis RBV (mg/día), n (%)			
1200	49 (31)	36 (33)	13 (26)
1000	84 (52)	64 (59)	20 (39)
800	27 (17)	9 (8)	18 (35)
Tipo PegIFN-alfa, n (%)			
2a	110 (69)	72 (66)	38 (74)
2b	50 (31)	37 (34)	13 (26)
Retratamiento VHC, n (%)	15 (9)	9 (8)	6 (12)
Tratamiento antirretroviral, n (%)	136 (85)	93 (85)	43 (84)
ITIAN			
Abacavir	48 (30)	34 (31)	14 (28)
Emtricitabina	42 (26)	29 (27)	13 (26)
Estavudina	14 (9)	9 (8)	5 (10)
Lamivudina	71 (44)	48 (44)	23 (45)
Tenofovir	77 (48)	53 (49)	24 (47)
Zidovudina	21 (13)	13 (21)	8 (16)
ITINAN			
Efavirenz	31 (19)	25 (23)	6 (12)
Nevirapina	19 (12)	13 (12)	6 (12)

Continuación Tabla 19.

Variables	Total N=160	Genotipos 1/4 N=109	Genotipos 2/3 N=51
IP			
Amprenavir/r	6 (4)	5 (5)	1 (2)
Atazanavir	23 (14)	15 (14)	8 (16)
Atazanavir/r	11 (7)	5 (5)	6 (12)
Darunavir/r	1 (1)	1 (1)	0
Lopinavir/r	18 (11)	11 (10)	7 (14)
Nelfinavir	2 (1)	2 (2)	0
Saquinavir/r	4 (2)	2 (2)	2 (4)
Tipranavir/r	1 (1)	1 (1)	0
Enfuvirtida	1 (1)	1 (1)	0
Carga viral VIH < 50 copias/mL, n (%)	125 (78)	88 (81)	37 (72)
Recuento de CD4 (células/ μ L)	482 (378-699)	520 (388-700)	450 (322-648)

PegIFN: interferón pegilado; RBV: ribavirina; ITIAN: Inhibidores de la Transcriptasa inversa análogos de nucleósido; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido; IP: inhibidores de la proteasa.

5.2.2 Polimorfismos genéticos en *SLC29A1*

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los cinco SNPs analizados en el gen *SLC29A1* (rs1057985, rs9394992, rs324148, rs324149 y rs760370) se describen en la **Tabla 20**. Todos los SNPs estudiados se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 20. Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos en el gen *SLC29A1* en el total de los pacientes del estudio y según el genotipo viral VHC.

SNP	Total N=160	Genotipos 1/4 N=109	Genotipos 2/3 N=51
rs1057985C>T			
CC	79 (49)	55 (50)	24 (47)
CT	66 (41)	42 (39)	24 (47)
TT	15 (9)	12 (11)	3 (6)
C	224 (70)	152 (70)	72 (71)
T	96 (30)	66 (30)	30 (29)
rs9394992C>T			
CC	87 (54)	61 (56)	26 (51)
CT	64 (40)	42 (38)	22 (43)
TT	9 (6)	6 (6)	3 (6)
C	238 (74)	164 (75)	74 (73)
T	82 (26)	54 (25)	28 (27)
rs324148C>T			
CC	83 (52)	55 (51)	28 (55)
CT	65 (41)	43 (39)	22 (43)
TT	12 (7)	11 (10)	1 (2)
C	231 (72)	153 (70)	78 (76)
T	89 (28)	65 (29)	24 (24)
rs324149C>T			
CC	88 (55)	60 (55)	28 (55)
CT	63 (39)	42 (39)	21 (41)
TT	9 (6)	7 (6)	2 (4)
C	239 (75)	162 (74)	77 (75)
T	81 (25)	56 (26)	25 (25)
rs760370A>G			
AA	56 (35)	43 (39)	13 (26)
AG	76 (47)	50 (46)	26 (51)
GG	28 (18)	16 (15)	12 (23)
A	188 (59)	136 (62)	52 (51)
G	132 (41)	82 (38)	50 (49)

5.2.3 Respuesta virológica

De los 160 pacientes incluidos en el estudio, 86 pacientes (54%) alcanzaron RVS, 23 pacientes (14%) recidivaron y 51 pacientes (32%) fracasaron durante el tratamiento (**Tabla 21**).

Tabla 21. Respuestas virológicas rápida, temprana, a fin de tratamiento, sostenida, recidiva y fracaso durante el tratamiento en el total de los pacientes del estudio y según genotipo VHC.

	Total N=160	Genotipos 1/4 N=109	Genotipos 2/3 N=51	p 1/4 vs. 2/3
RVR, n (%)	56 (35)	24 (22)	32 (63)	< 0,001
RVT, n (%)	130 (81)	79 (72)	51 (100)	< 0,001
RVFT, n (%)	109 (68)	63 (58)	46 (90)	< 0,001
RVS, n (%)	86 (54)	42 (39)	44 (86)	< 0,001
Recidiva	23 (14)	21 (19)	2 (4)	0,008
No respuesta, n (%)	51 (32)	46 (42)	5 (10)	< 0,001

Las **Figuras 22 y 23** representan la evolución de la mediana del ARN-VHC a lo largo del tratamiento en los pacientes del estudio con genotipos VHC 1 ó 4 y genotipos VHC 2 ó 3, respectivamente. En los 109 pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 se observaron 5 tipos de cinéticas virales diferentes: RVS (n=42), recidiva (n=21) y 3 tipos de no respuesta a lo largo del tratamiento (n=46). De estos últimos 46 pacientes que no respondieron durante el tratamiento, 29 pacientes tuvieron RVR y RVT negativas, 13 pacientes tuvieron RVR negativa, RVT positiva pero no alcanzaron ARN-VHC indetectable en semana 24 y 4 pacientes tuvieron RVR negativa, RVT positiva y ARN-VHC indetectable en semana 24 pero con posterior rebrote del ARN-HCV.

En los 51 pacientes con genotipos VHC 2 ó 3 se observaron 4 tipos de cinéticas virales diferentes: RVS (n=44), recidiva (n=2) y 2 tipos de no respuesta a lo largo del tratamiento (n=5). De estos últimos 5 pacientes que no respondieron durante el tratamiento, 3 pacientes alcanzaron RVR y RVT positivas pero experimentaron rebrote del ARN-VHC en semana 24 y 2 pacientes tuvieron RVR negativa, RVT positiva y ARN-VHC indetectable en semana 24, pero experimentaron rebrote del ARN-VHC en semana 48.

Figura 22. Representación de la cinética viral de los pacientes con genotipos VHC 1/4.

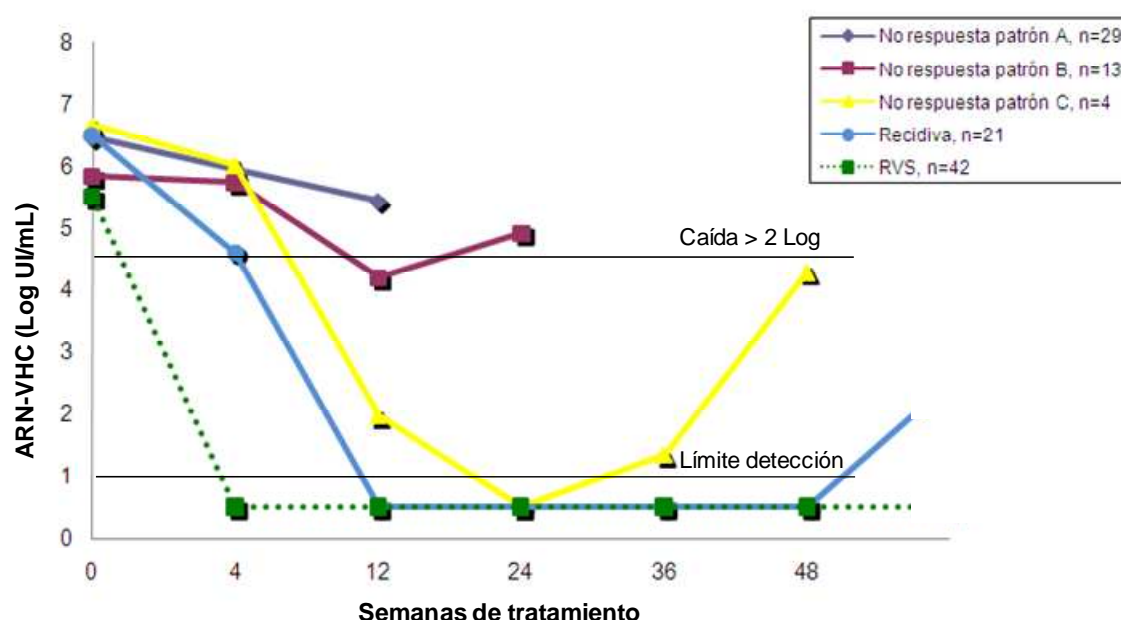
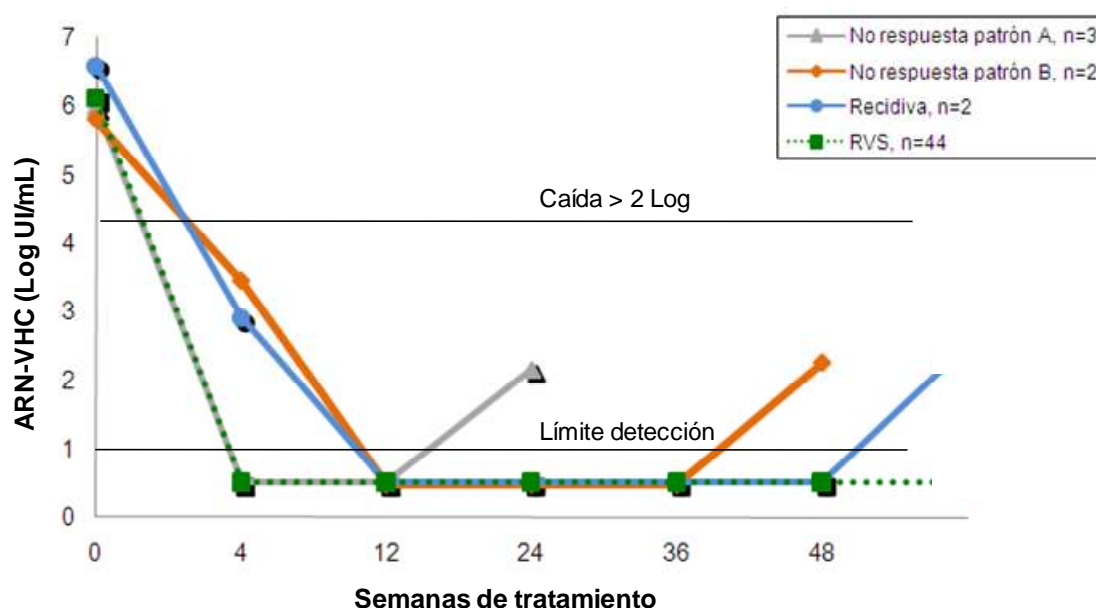


Figura 23. Representación de la cinética viral de los pacientes con genotipos VHC 2/3.

5.2.4 Predictores de la respuesta virológica

Se analizaron los factores predictores de la respuesta virológica rápida y la respuesta virológica sostenida.

A) Predictores de respuesta Virológica Rápida

Un total de 56 pacientes del estudio (35%) alcanzaron RVR; 24 (22%) con genotipos VHC 1 ó 4 y 32 (63%) con genotipos VHC 2 ó 3 ($p < 0,001$).

En las **Tablas 22, 23 y 24** se representan las frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en los pacientes clasificados según tengan o no RVR. Al analizar el impacto de cada uno de los cinco SNPs en la RVR en el total de los pacientes del estudio, sólo el SNP rs760370A>G mostró una asociación estadísticamente significativa con la RVR. El 57% de los pacientes portadores del genotipo GG alcanzaron RVR

comparado con el 30% de los pacientes portadores de los genotipos AA y AG ($p=0.009$). No se encontraron diferencias significativas entre los genotipos AA y AG (**Figura 24**).

Considerando el genotipo VHC, el impacto del SNP rs760370A>G sobre la RVR fue estadísticamente significativo solamente en aquellos pacientes infectados con genotipos VHC 1 ó 4. El 50% de los pacientes con genotipo VHC 1 ó 4 portadores del genotipo GG alcanzaron RVR comparado con el 17% de los pacientes portadores de los genotipos AA y AG ($p=0.007$) (**Figura 24**).

Tabla 22. Frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en la población total de estudio con y sin RVR (n=160).

SNP	Pacientes con RVR (n=56)	Pacientes sin RVR (n=104)	P
rs1057985C>T			
CC	26 (46)	53 (51)	0,81
CT	25 (45)	41 (39)	
TT	5 (9)	10 (10)	
C	77 (69)	147 (71)	0,88
T	35 (31)	61 (29)	
rs9394992C>T			
CC	29 (52)	58 (56)	0,86
CT	24 (43)	40 (38)	
TT	3 (5)	6 (6)	
C	82 (73)	156 (75)	0,87
T	30 (27)	52 (25)	
rs324148C>T			
CC	33 (59)	50 (48)	0,41
CT	19 (34)	46 (44)	
TT	4 (7)	8 (8)	
C	85 (76)	146 (70)	0,43
T	27 (24)	62 (30)	
rs324149C>T			
CC	33 (59)	55 (53)	0,76
CT	20 (36)	43 (41)	
TT	3 (5)	6 (6)	
C	86 (77)	153 (74)	0,74
T	26 (23)	55 (26)	
rs760370A>G			
AA	21 (37)	35 (34)	0,009
AG	19 (34)	57 (55)	
GG	16 (29)	12 (11)	
A	61 (54)	127 (61)	0,39
G	51 (46)	81 (39)	

En negrita se muestra la asociación significativa entre el SNP rs760370A>G y la RVR.

Tabla 23. Frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en los pacientes con genotipo viral VHC 1 ó 4 con y sin RVR (n=109).

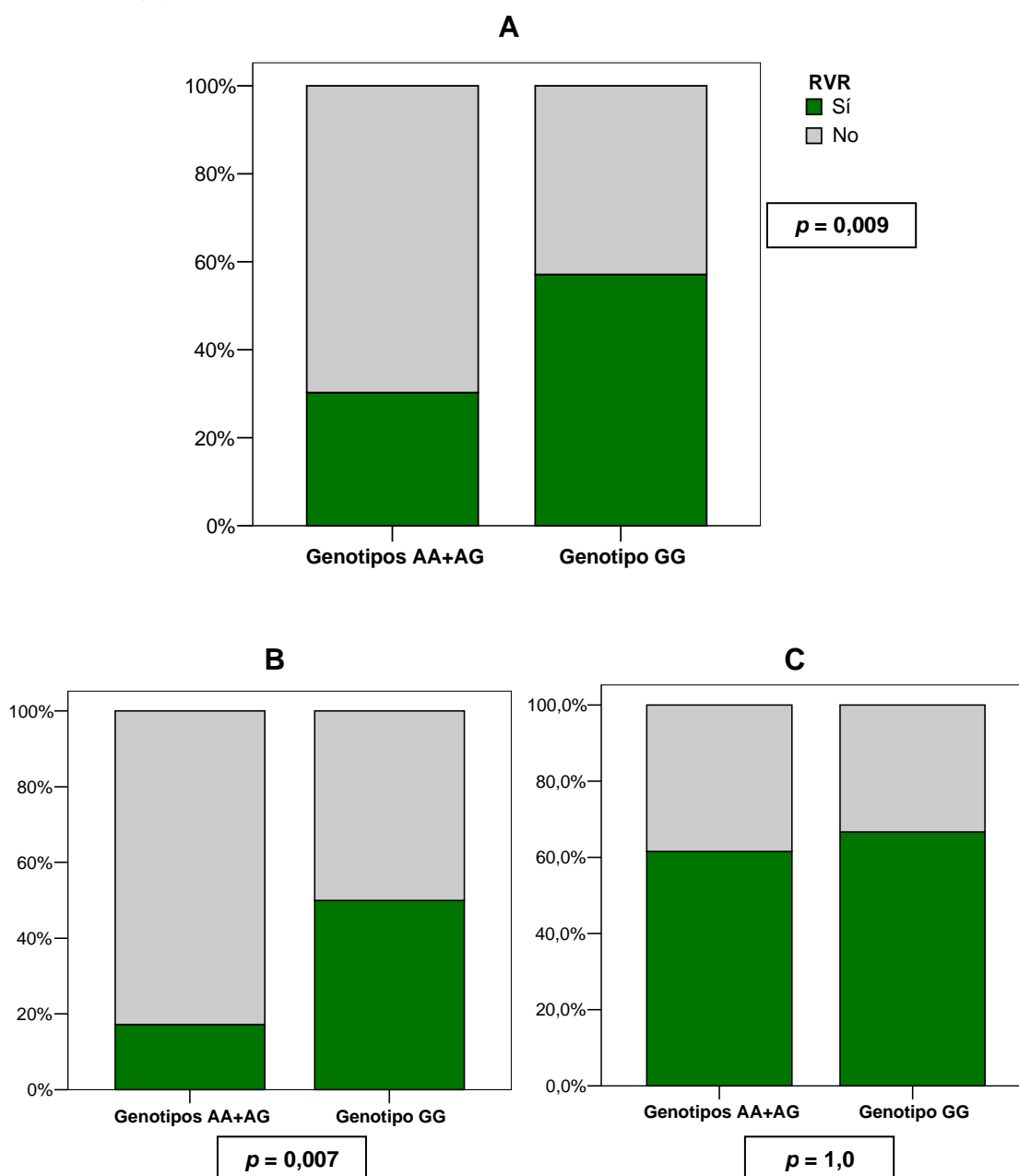
SNP	Pacientes con RVR (n=24)	Pacientes sin RVR (n=85)	P
rs1057985C>T			
CC	12 (50)	43 (51)	0,96
CT	9 (38)	33 (39)	
TT	3 (12)	9 (10)	
C	33 (69)	119 (70)	1,0
T	15 (31)	51 (30)	
rs9394992C>T			
CC	13 (54)	48 (56)	0,79
CT	9 (38)	33 (39)	
TT	2 (8)	4 (5)	
C	35 (73)	129 (76)	0,75
T	13 (27)	41 (24)	
rs324148C>T			
CC	14 (58)	41 (48)	0,50
CT	7 (29)	36 (42)	
TT	3 (13)	8 (9)	
C	35 (73)	118 (69)	0,64
T	13 (27)	52 (31)	
rs324149C>T			
CC	15 (63)	45 (53)	0,55
CT	7 (29)	35 (41)	
TT	2 (8)	5 (6)	
C	37 (77)	125 (74)	0,74
T	11 (23)	45 (26)	
rs760370A>G			
AA	10 (42)	33 (39)	0,006
AG	6 (25)	44 (52)	
GG	8 (33)	8 (9)	
A	26 (54)	110 (65)	0,15
G	22 (46)	60 (35)	

En negrita se muestra la asociación significativa entre el SNP rs760370A>G y la RVR

Tabla 24. Frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en los pacientes con genotipo viral VHC 2 ó 3 con y sin RVR (n=51).

SNP	Pacientes con RVR (n=32)	Pacientes sin RVR (n=19)	P
rs1057985C>T			
CC	14 (44)	10 (53)	0,83
CT	16 (50)	8 (42)	
TT	2 (6)	1 (5)	
C	44 (69)	28 (74)	0,53
T	20 (31)	10 (26)	
rs9394992C>T			
CC	16 (50)	10 (53)	0,49
CT	15 (47)	7 (37)	
TT	1 (Amorosa <i>et al.</i>)	2 (10)	
C	47 (73)	27 (71)	0,87
T	17 (27)	11 (29)	
rs324148C>T			
CC	19 (59)	9 (47)	0,46
CT	12 (38)	10 (53)	
TT	1 (Amorosa <i>et al.</i>)	0 (0)	
C	50 (78)	28 (74)	0,62
T	14 (22)	10 (26)	
rs324149C>T			
CC	18 (56)	10 (53)	0,92
CT	13 (41)	8 (42)	
TT	1 (Amorosa <i>et al.</i>)	1 (5)	
C	49 (77)	28 (74)	0,74
T	15 (23)	10 (26)	
rs760370A>G			
AA	11 (34)	2 (11)	0,11
AG	13 (41)	13 (68)	
GG	8 (25)	4 (21)	
A	35 (55)	17 (45)	0,20
G	29 (45)	21 (55)	

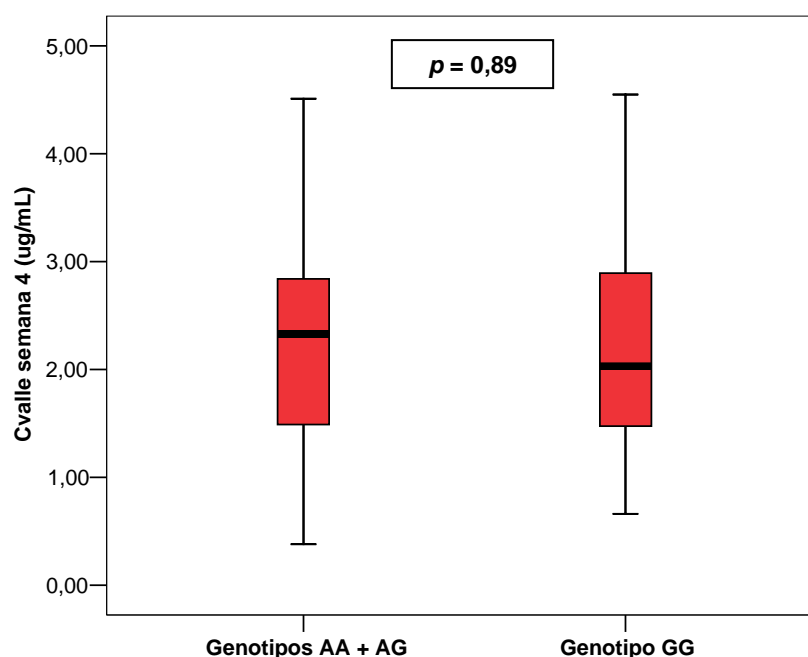
Figura 24. Porcentajes de pacientes con RVR y sin RVR según genotipo GG rs760370 en el total de los pacientes (A) y en pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 (B) y genotipos VHC 2 ó 3 (C).



Teniendo en cuenta que el impacto del SNP rs760370A>G se producía en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 y no en genotipos VHC 2 ó 3, restringimos el resto de los análisis a los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4.

La mediana de la C_{valle} RBV en semana 4 en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 fue de 2,2 (1,5-2,8) $\mu\text{g/mL}$. No hubo diferencias significativas en la C_{valle} RBV entre los pacientes con genotipo AA + AG y GG (2,3 (1,5-2,8) vs. 2,0 (1,5-2,9) $\mu\text{g/mL}$, $p=0,89$) (**Figura 25**).

Figura 25. Concentración valle de RBV en semana 4 en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 según genotipo para el SNP rs760370 A>G.



Se realizaron regresiones logísticas para evaluar las variables que predecían la RVR en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4. Las variables que se incluyeron en el análisis fueron la edad, sexo, fibrosis hepática, ARN-VHC basal, dosis de RBV, tipo de pegIFN-alfa, C_{valle} RBV, genotipo GG del rs760370A>G y el tratamiento antirretroviral concomitante. Del análisis multivariante, tres variables quedaron independientemente asociadas con la RVR: la carga viral basal < 600.000 UI/mL (OR: 45,7; IC95%: 8,7-240,5; $p<0.001$), C_{valle} RBV $\geq 2,5$ $\mu\text{g/mL}$ (OR: 4,8; IC95%: 1,3-17,1; $p=0,016$) y el

genotipo GG del rs760370A>G (OR: 15,9; IC95%:2,8-92,2; $p=0.002$) (**Tabla 25**).

Tabla 25. Principales predictores de la respuesta virológica rápida a la terapia pegIFN-alfa y RBV en los pacientes coinfectados VIH/VHC con genotipos VHC 1 ó 4.

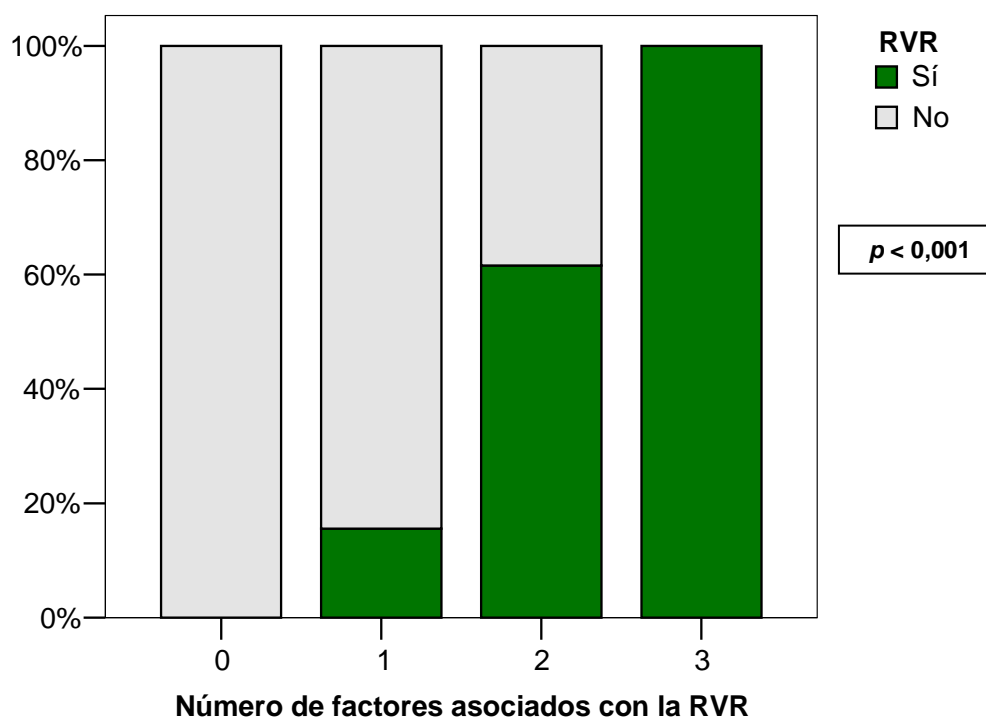
Variables	Análisis Bivariante		Análisis Multivariante	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
Edad (por año)	0,96 (0,88 – 1,1)	0,44	-	-
Sexo masculino	1,4 (0,44 – 4,7)	0,69	-	-
Fibrosis avanzada (Metavir F3-F4)	1,1 (0,29 – 3,9)	0,91	-	-
Carga viral VHC basal <600.000 UI/mL	19,0 (5,8 – 63,4)	<0,001	45,7 (8,7 – 240,5)	<0,001
Tipo PegIFN-alfa (2a vs 2b)	1,3 (0,49 – 3,3)	0,62	-	-
Dosis RBV (1200 mg vs. dosis más bajas)	0,42 (0,1 – 1,7)	0,23	-	-
C_{valle} RBV semana 4 \geq 2,5 μg/mL	2,3 (0,92 – 5,8)	0,07	4,8 (1,3 – 17,1)	0,016
rs760370 en SLC29A1 (genotipo GG vs. AG/AA)	4,8 (1,6 – 14,7)	0,006	15,9 (2,8 – 92,2)	0,002
Tratamiento antirretroviral	2,2 (0,46 – 10,3)	0,33	-	-

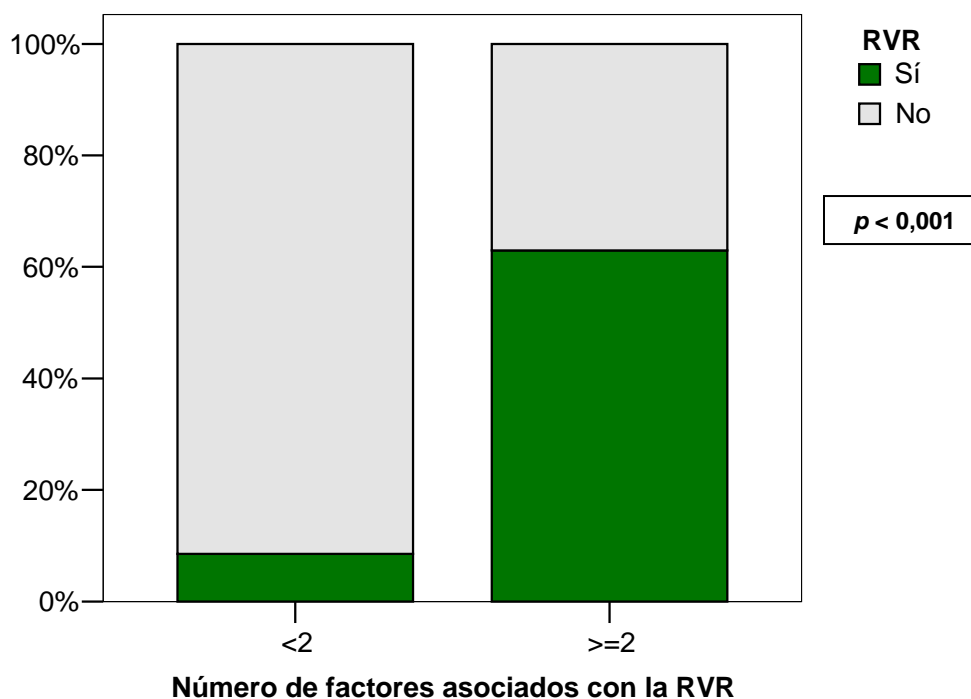
Las variables con significación estadística están en negrita.

Por último, analizamos el impacto de la combinación de las tres variables que predecían independientemente la RVR sobre la RVR en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 (ARN-VHC basal < 600.000 UI/mL, C_{valle} RBV en semana 4 \geq 2,5 μ g/mL y el genotipo GG del rs760370A>G). La distribución del número de factores fue la siguiente: 1 paciente (1%) consiguió los 3 factores, 20 pacientes (24%) 2 factores, 45 pacientes (41%) 1 factor y 37 pacientes (34%) 0 factores. Si consideráramos tener los 3 factores, los valores predictivos

positivo y negativo eran del 100% y 78%, respectivamente ($p < 0.001$). Como sólo 1 paciente logró tener los 3 factores, consideramos la presencia de 2 o más factores. Así, cuando estaban presentes 2 o más factores, los valores predictivos positivos y negativos fueron del 63% y 92%, respectivamente ($p < 0.001$) (**Figura 26**).

Figura 26. Porcentajes de pacientes con RVR y sin RVR según el número de factores asociados independientemente con la RVR en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 (ARN-VHC basal < 600.000 UI/mL, C_{valle} RBV en semana 4 $\geq 2,5$ $\mu\text{g/mL}$ y el genotipo GG del rs760370A>G).

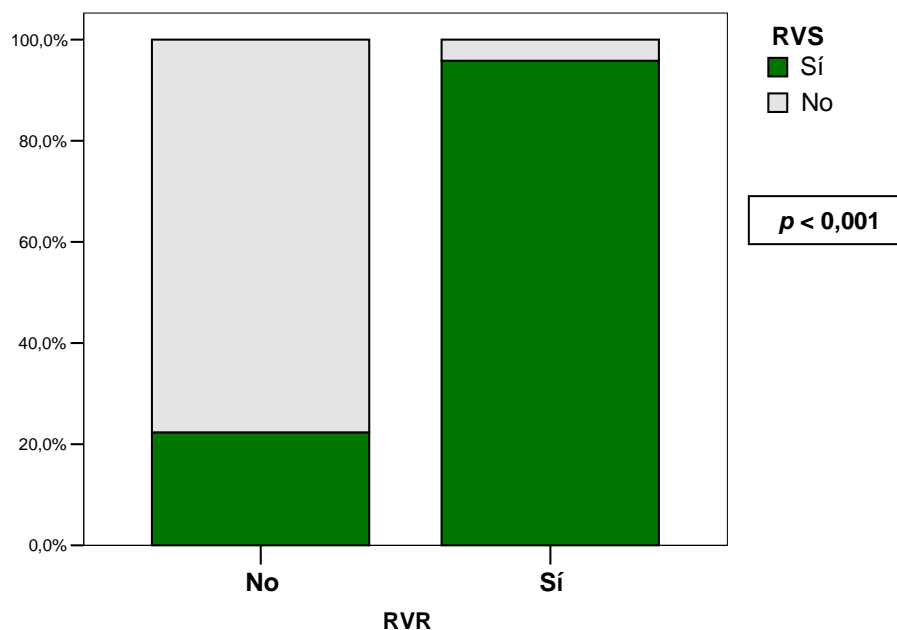




B) Predictores de respuesta Viroológica Sostenida

Un total de 42 pacientes (39%) del estudio con genotipos VHC 1 ó 4 alcanzaron RVS. Hay que destacar que el 96% de los pacientes que consiguieron RVR, alcanzaron RVS, mientras que sólo lo lograron el 22% de los pacientes sin RVR ($p < 0,001$) (**Figura 27**).

Figura 27. Porcentajes de pacientes con RVS y sin RVS según alcanzaran o no RVR en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4.

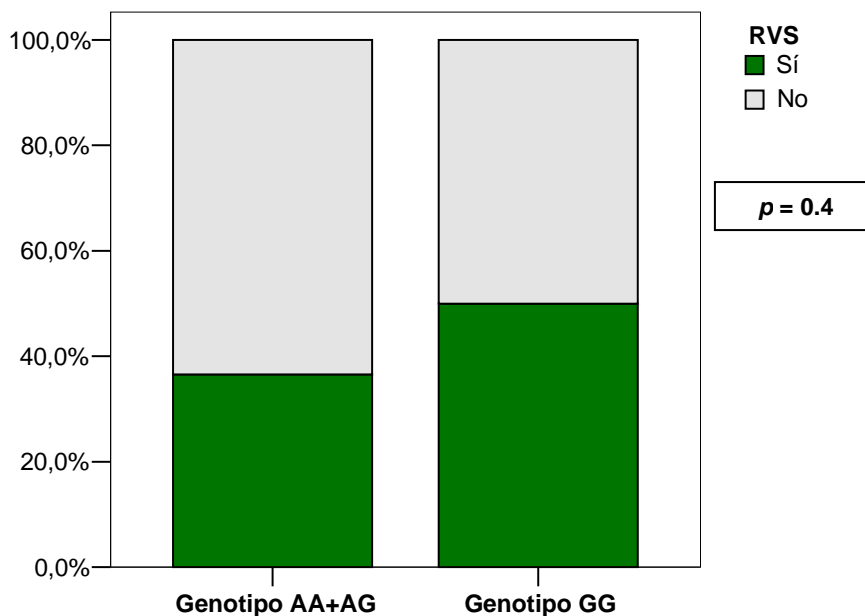


En la **Tabla 26** se representan las frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en los pacientes con genotipo VHC 1 ó 4 clasificados según tengan o no RVS. Ninguno de los SNPs en el gen *SLC29A1* influenció la RVS. Analizando el impacto del SNP rs760370A>G en la RVS, la proporción de pacientes que alcanzó RVS era mayor en los pacientes con el genotipo GG que en los pacientes con genotipos AA + AG, sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas (50% vs. 37%, $p=0,4$) (**Figura 28**).

Tabla 26. Frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los cinco SNPs en el gen *SLC29A1* en los pacientes con genotipo viral VHC 1 ó 4 con y sin RVS (n=109).

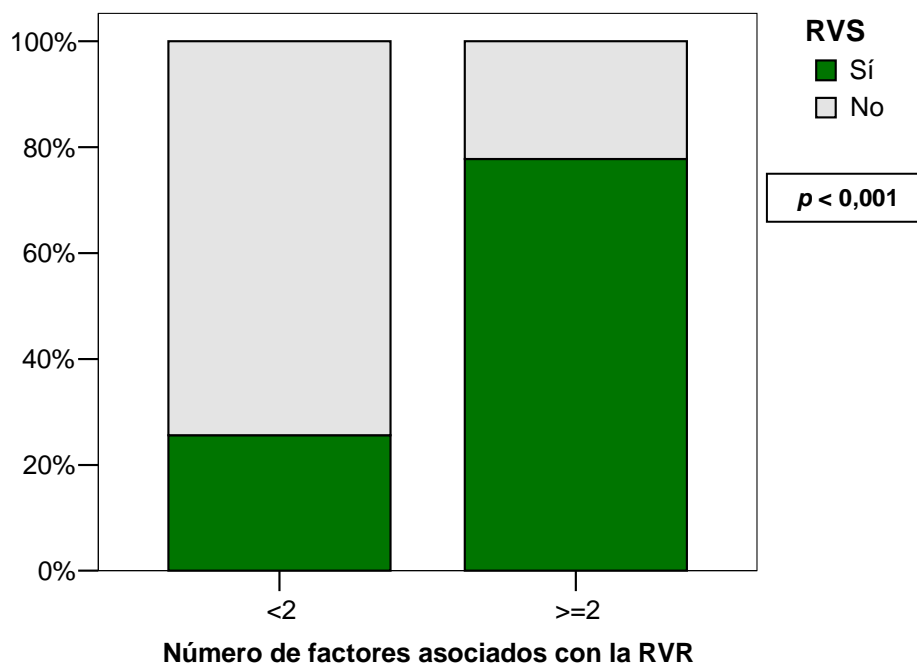
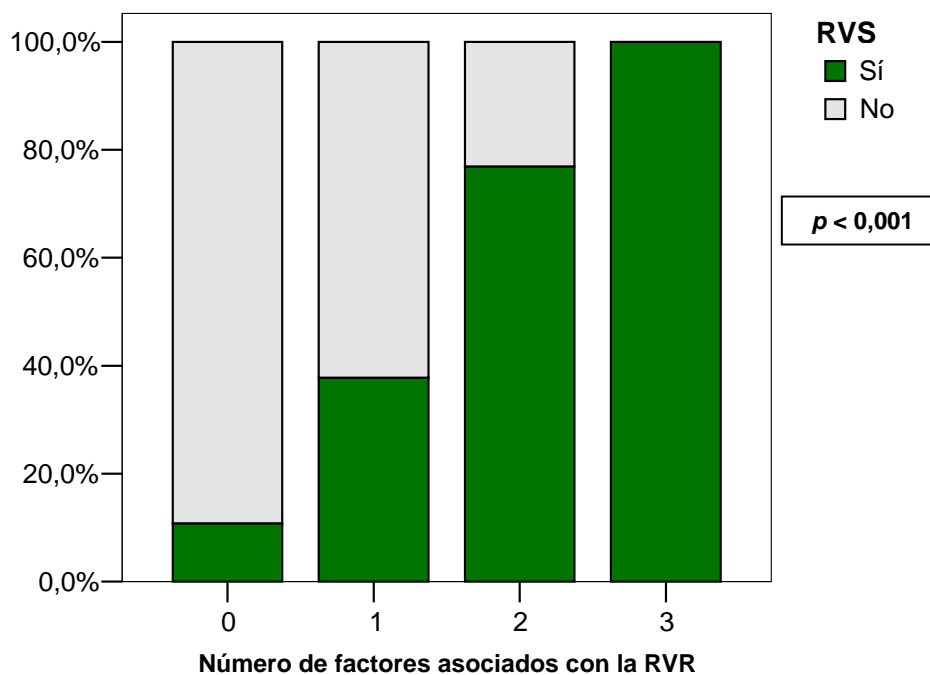
SNP	Pacientes con RVS (n=42)	Pacientes sin RVS (n=67)	<i>p</i>
rs1057985C>T			
CC	18 (43)	37 (55)	0,44
CT	19 (45)	23 (34)	
TT	5 (12)	7 (10)	
C	55 (66)	97 (72)	0,44
T	29 (34)	37 (28)	
rs9394992C>T			
CC	25 (59)	36 (54)	0,83
CT	15 (36)	27 (40)	
TT	2 (5)	4 (6)	
C	65 (77)	99 (74)	0,96
T	19 (23)	35 (26)	
rs324148C>T			
CC	21 (50)	34 (51)	0,49
CT	15 (36)	28 (42)	
TT	6 (14)	5 (7)	
C	57 (68)	96 (72)	1,0
T	27 (32)	38 (28)	
rs324149C>T			
CC	24 (57)	36 (54)	0,88
CT	15 (36)	27 (40)	
TT	3 (7)	4 (6)	
C	63 (75)	99 (74)	1,0
T	21 (25)	35 (26)	
rs760370A>G			
AA	17 (40)	26 (39)	0,51
AG	17 (40)	33 (49)	
GG	8 (19)	8 (12)	
A	51 (61)	85 (63)	0,88
G	33 (39)	49 (37)	

Figura 28. Porcentajes de pacientes con RVS y sin RVS según genotipo GG en rs760370 A>G.



Por último, se analizó el impacto de la combinación de los factores que predecían la RVR sobre la RVS. Si consideráramos tener los 3 factores (ARN-VHC basal < 600.000, $C_{\text{valle}} \geq 2.5 \mu\text{g/mL}$, genotipo GG del rs760370A>G), los valores predictivos positivo y negativo eran del 100% y 62%, respectivamente ($p < 0.001$). Cuando estaban presentes 2 o más factores, los valores predictivos positivos y negativos fueron del 78% y 74%, respectivamente ($p < 0.001$) **(Figura 29)**.

Figura 29. Porcentajes de pacientes con RVS y sin RVS según el número de factores asociados independientemente con la RVR en los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 (ARN-VHC basal < 600.000, C_{valle} ≥ 2.5 µg/mL, genotipo GG del rs760370A>G).



6 DISCUSIÓN

Aproximadamente una cuarta parte de los individuos VIH+ están coinfectados por VHC. Las principales causas de morbilidad y mortalidad en los pacientes VIH+ han ido cambiando a lo largo del tiempo. La introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad ha reducido extraordinariamente la incidencia de las infecciones clásicas oportunistas, sin embargo, ha convertido la enfermedad hepática en una de las principales causas de enfermedad y muerte en esta población. Esto se debe al aumento de la esperanza de vida de los pacientes VIH+, a la rápida progresión de la enfermedad hepática a cirrosis en los pacientes VIH+ y a la posible hepatotoxicidad de los antirretrovirales (Graham *et al.* 2001; Winrock *et al.* 2004; Weber *et al.* 2006; Soriano *et al.* 2008). Por todo ello, es crucial tratar y erradicar el VHC en el paciente coinfectado VIH/VHC.

Actualmente, el único tratamiento del VHC disponible es la combinación de pegIFN y RBV. Es un tratamiento costoso, no se tolera bien por sus frecuentes efectos adversos, tiene varias contraindicaciones y, de forma global, cura a menos del 50% de los pacientes coinfectados VIH/VHC (Carrat *et al.* 2004; Chung *et al.* 2004; Laguno *et al.* 2004; Torriani *et al.* 2004; Nuñez *et al.* 2007). Por otro lado, se están desarrollando nuevos fármacos antivirales de acción directa contra el VHC. Los ensayos clínicos con inhibidores de la proteasa en pacientes monoinfectados VHC, han arrojado muy buenos resultados de eficacia virológica, sin embargo, muestran que es imprescindible administrar RBV de forma concomitante para maximizar la RVS. La tasa de recidiva fue significativamente mayor en el brazo que no recibió RBV, lo que indica que la RBV seguirá siendo un fármaco esencial en los nuevos regímenes de

tratamiento (Hezode *et al.* 2009). Por tanto, es imprescindible conocer los factores dependientes de la RBV que van a predecir la respuesta virológica para optimizar al máximo el éxito terapéutico. Entre estos factores, se encuentran aquéllos relacionados con la farmacocinética y la farmacogenética de la RBV.

A continuación, se discuten los resultados obtenidos en relación al papel que pueden jugar las concentraciones plasmáticas y los factores genéticos de la RBV en la predicción de la respuesta al tratamiento del VHC.

Asociación entre niveles plasmáticos de RBV y la recidiva del VHC.

En varios estudios se ha demostrado la asociación entre concentraciones plasmáticas de RBV y la respuesta virológica rápida, temprana y sostenida (revisado por Morello *et al.* 2008; Chan *et al.* 2009). Sin embargo, ningún estudio, hasta la fecha, ha evaluado el impacto de las concentraciones plasmáticas de RBV en la recidiva al tratamiento del VHC.

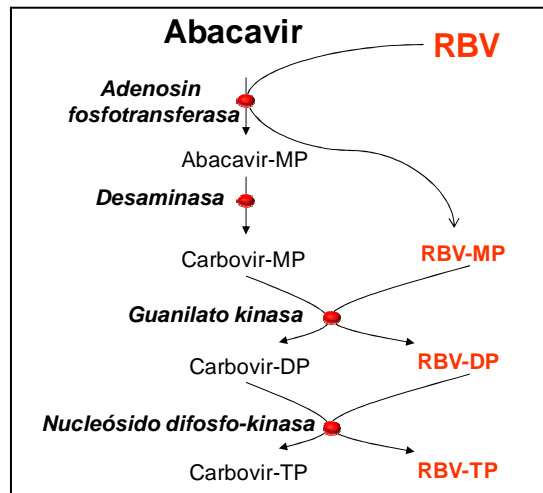
La recidiva es uno de los mayores inconvenientes en pacientes que han terminado un curso de tratamiento de hepatitis C, fundamentalmente en pacientes coinfectados VIH/VHC, en los que la recidiva es más frecuente que en pacientes mono infectados VHC. La tasa global de recidiva en nuestro estudio fue del 33%, dato que concuerda con la tasa descrita en otros estudios en pacientes coinfectados VIH/VHC (rango 15-37%) (Carrat *et al.* 2004; Chung *et al.* 2004; Soriano *et al.* 2004; Torriani *et al.* 2004; Voigt *et al.* 2006; Nuñez *et al.* 2007).

En este estudio, los factores que predijeron de forma independiente la recidiva del VHC fueron el ARN-VHC basal, los genotipos VHC 1 ó 4 y la C_{valle} RBV < 2.5 µg/mL. El uso concomitante de abacavir fue un predictor de recidiva en el análisis bivalente, pero dicha asociación se perdió en el análisis multivariante por el impacto de la C_{valle} RBV sobre la recidiva. En primer lugar, recidivaron más pacientes que recibían abacavir, comparado con los pacientes que no lo recibían (47% vs. 26%) y, en segundo lugar, entre los pacientes que recibían abacavir, la C_{valle} de RBV fue menor en aquéllos que recidivaron. Por tanto, el efecto negativo del abacavir sobre la respuesta virológica se produce fundamentalmente cuando la exposición de RBV es baja, hecho observado en estudios anteriores (Mira *et al.* 2008; Vispo *et al.* 2008).

El efecto deletéreo del abacavir sobre la respuesta virológica al tratamiento con pegIFN y RBV fue descrito por primera vez en el estudio RIBAVIC, en el que se administraron dosis bajas de RBV (Bani-Sadr *et al.* 2007). Otros estudios, en los que se administraron dosis altas de RBV ajustadas al peso, no han reconocido el efecto negativo del abacavir (Laufer *et al.* 2008; Amorosa *et al.* 2010).

Se ha planteado una hipótesis para explicar la interacción entre la RBV y el abacavir. La RBV y el abacavir son análogos de guanósina, por lo que utilizan las mismas enzimas intracelulares que participan en la fosforilación a sus formas trifosfato activas. El abacavir podría inhibir la fosforilación de la ribavirina al competir por las mismas enzimas intracelulares, y por consiguiente, disminuir su actividad anti-VHC. Este efecto, sin embargo, podría ser menos reconocible o estaría compensado en presencia de altas concentraciones de RBV (Vispo *et al.* 2008) **(Figura 30)**.

Figura 30. Mecanismo propuesto para explicar la interferencia entre el abacavir y la RBV basado en la competición por la fosforilación intracelular (adaptado de Vispo *et al.* 2008).



El punto de corte de C_{valle} de RBV para predecir la recidiva del VHC se estableció en 2.5 $\mu\text{g/mL}$. Los pacientes con C_{valle} RBV < 2.5 $\mu\text{g/mL}$ en semana 4 tenían un riesgo 4.5 veces mayor de recaer que los que tenían C_{valle} RBV \geq 2.5 $\mu\text{g/mL}$. En estudios anteriores, se han definido puntos de corte de C_{valle} RBV distintos al encontrado en este trabajo. Esta discrepancia puede ser explicada por las diferencias entre los estudios a nivel de las características de los pacientes, del tratamiento y la metodología analítica.

En primer lugar, ciertas características de los pacientes pueden afectar a la farmacocinética de la RBV: edad, sexo, función renal, peso corporal, raza, coinfección con VIH, interacciones con fármacos y alimentos, etc. En este estudio, el sexo masculino y los fármacos antirretrovirales emtricitabina e inhibidores de la proteasa sin potenciar (fundamentalmente atazanavir) se asociaron con menor C_{valle} RBV. Hay pocos datos sobre el efecto de los fármacos antirretrovirales sobre la farmacocinética de la RBV, pero podrían

interaccionar con la RBV a nivel enzimático y a nivel del transporte de RBV al interior celular, afectando así a su absorción, metabolismo y excreción.

En segundo lugar, las características del tratamiento (tipo y/o dosis de IFN y RBV) y su duración pueden afectar a la actividad antiviral. Respecto al tipo de IFN, el uso de pegIFN-alfa vs. IFN-alfa estándar y el uso de pegIFN-alfa 2a vs. alfa 2b han demostrado mayor actividad antiviral (Vispo *et al.* 2008; Awad *et al.* 2010; Foster 2010).

En tercer lugar, los aspectos técnicos de la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de RBV también pueden explicar la discrepancia encontrada entre los diferentes estudios. Entre dichos aspectos, hay que tener en cuenta el día en que se cuantifican las concentraciones de RBV. El estado de equilibrio estacionario de RBV se alcanza en la semana 4 de tratamiento y por tanto, las concentraciones de RBV cuantificadas antes de semana 4 son menores que las cuantificadas después de semana 4. Otro factor muy importante es el tiempo que pasa entre la extracción de sangre y la separación del suero o plasma. Éste debe de ser el mínimo posible para evitar la hemólisis de los glóbulos rojos, que sobreestimaría las concentraciones plasmáticas o séricas de RBV. También es importante escoger entre plasma o suero, ya que las concentraciones de RBV han demostrado ser más reproducibles en plasma que en suero (Dixit *et al.* 2006). Por último, el método de análisis cromatográfico debe cumplir las exigencias técnicas establecidas.

En este trabajo, las concentraciones plasmáticas de RBV en semana 4 fueron predictoras de la recidiva tras el tratamiento con pegIFN-RBV, lo que subraya la importancia de conseguir una exposición óptima de RBV en fases tempranas

del tratamiento para maximizar la probabilidad de curación. El hecho de que exista una asociación entre las concentraciones plasmáticas de RBV y la respuesta virológica, podría apoyar el uso de la MCP de RBV en semana 4 con posterior ajuste de dosis para optimizar la respuesta virológica. No obstante, hay que discutir varios aspectos:

1. En primer lugar, hay que evaluar si la RBV cumple los requisitos necesarios para ser monitorizada. La alta variabilidad interindividual y la baja variabilidad intraindividual de las concentraciones plasmáticas de RBV, confirmadas en este trabajo, apoyan el uso de la MCP. Del mismo modo, el rango terapéutico de la RBV, aunque no está bien definido, se espera que sea muy estrecho ya que las concentraciones eficaces probablemente también estén asociadas a un cierto grado de anemia. Sin embargo, la correlación entre las concentraciones plasmáticas de RBV y la actividad antiviral puede verse comprometida por el hecho de que varios de los posibles mecanismos antivirales de la RBV implican a las formas fosforiladas de RBV. Si se confirmaran dichos mecanismos de acción, la correlación entre las concentraciones plasmáticas de RBV (no fosforiladas) y su actividad antiviral sería sólo indirecta. Por último, en cuanto a los aspectos metodológicos, sería necesario estandarizar la metodología y/o implantar programas de control de calidad en los laboratorios para minimizar la variabilidad inter-laboratorio.
2. Se ha postulado que la RBV actúa en la segunda fase de la caída de la carga viral (primeras semanas) (Dixit *et al.* 2004; Pawlotsky *et al.* 2004). Según este hecho, la exposición de RBV sería crucial sólo durante los primeros días del tratamiento, y por tanto, la MCP en semana 4 con

posterior ajuste de dosis, ejercería un efecto mínimo sobre la respuesta virológica. Una posible estrategia sería cuantificar RBV en los primeros días de tratamiento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que debido a la larga semivida de la RBV, el estado de equilibrio estacionario no se alcanza hasta la semana 4 de tratamiento, y por tanto, las concentraciones plasmáticas de RBV anteriores a la semana 4 pueden no reflejar las concentraciones en el lugar de acción. Algunos estudios proponen monitorizar niveles en los primeros días de tratamiento porque sugieren que las diferencias en la farmacocinética de la RBV entre respondedores y no respondedores aparecen sobre todo durante la primera semana (Loustaud-Ratti *et al.* 2008). Se necesitan realizar más estudios para confirmar estos hallazgos.

3. Por otro lado, el efecto antiviral de la RBV se observa fundamentalmente sobre la tasa de recidiva del VHC al tratamiento con IFN-alfa y, recientemente, con los nuevos inhibidores de la proteasa (McHutchison *et al.* 1998; Poynard *et al.* 1998; Manns *et al.* 2001; Fried *et al.* 2002; Hezode *et al.* 2009). Los resultados obtenidos en nuestro estudio concuerdan con dichas observaciones porque apoyan el papel esencial de la exposición de RBV en el aclaramiento del VHC y resaltan que, además de afectar a la caída temprana de la carga viral del VHC, también impacta sobre la recidiva. En este momento no está claro en qué medida están interconectadas la RVR y la recidiva. Es posible que la recidiva se produzca fundamentalmente en los pacientes que no alcanzan RVR. De hecho, en este estudio, el 78% de los pacientes que recidivaron no consiguieron RVR en comparación con el 36% de los

pacientes que alcanzaron RVS. Sin embargo, los resultados de los ensayos clínicos de los nuevos inhibidores de la proteasa, sugieren que la exposición de RBV puede disminuir el riesgo de recidiva independientemente del efecto del tratamiento en la semana 4. Esta observación es muy importante ya que la MCP de RBV en semana 4 podría ser útil para maximizar la probabilidad de curación con la terapia estándar de VHC, especialmente en los pacientes con caída de carga viral lenta (RVR negativa).

4. Por último, habría que considerar la exposición global de RBV a lo largo de todo el tratamiento. A pesar de que la RBV actúa en las primeras semanas de tratamiento, podría ser necesario mantener una exposición óptima de forma continuada a lo largo de todo el tratamiento para conseguir RVS (Reddy *et al.* 2007). La monitorización de las concentraciones plasmáticas de RBV a lo largo del tratamiento podría ser útil para detectar posibles variaciones intraindividuales por interacciones farmacocinéticas, problemas de adherencia, etc.

Teniendo en cuenta que la exposición de RBV y la caída temprana de la carga viral juegan un papel fundamental en la respuesta virológica, se puede enfocar la utilidad de la farmacocinética de la RBV en la optimización de la dosis inicial de RBV más que en la MCP de RBV. Es decir, que lo primordial podría ser seleccionar de forma adecuada la dosis inicial de RBV para maximizar la probabilidad de conseguir RVR, y por tanto, RVS.

La selección de la dosis de RBV en función del peso corporal no es suficiente, ya que otros factores como el sexo, la edad y el aclaramiento de creatinina

también influyen en la farmacocinética de la RBV (Jen *et al.* 2000; Bruchfeld *et al.* 2002; Jen *et al.* 2002; Wade *et al.* 2006). Los estudios de farmacocinética poblacional pueden ser muy útiles para conocer todos aquellos factores responsables de la variabilidad interindividual de la farmacocinética de la RBV y el impacto de cada uno de ellos. A partir de esta información, se podría construir una fórmula farmacocinética para calcular la dosis inicial de RBV que incluyera los factores asociados con la farmacocinética de la RBV ponderados adecuadamente y la concentración diana de RBV que se pretende alcanzar asociada con la RVS (Bruchfeld *et al.* 2002; Lindahl *et al.* 2005). De esta forma, se evitarían sobredosificaciones, lo que ahorraría costes y evitaría toxicidades, e infradosificaciones, lo que favorecería la RVS. Uno de los problemas de esta estrategia es el riesgo de desarrollar anemia con dosis altas de RBV (>1200 mg/día). Además de los factores clásicos asociados con la anemia, recientemente, se han encontrado dos SNPs en el gen de la enzima inosina trifosfatasa (ITPA) que protegen de la anemia en pacientes mono infectados VHC tratados con pegIFN y RBV (Fellay *et al.* 2010). La determinación basal de estos marcadores podría ayudar a identificar a aquellos pacientes candidatos a recibir dosis altas de RBV con el objetivo de incrementar la tasa de respuesta con el menor riesgo de anemia.

Una limitación de este estudio es que no se cuantificaron concentraciones de IFN-alfa, por tanto, no se puede saber en qué medida contribuyó el IFN-alfa a la actividad antiviral. Este hecho podría afectar a la relación entre las concentraciones plasmáticas de RBV y la respuesta virológica. Otra limitación

es que no se pudieron incluir todos los factores que afectan a la PK de la RBV como el peso corporal y factores genéticos.

Asociación entre factores genéticos y la respuesta al tratamiento del VHC.

Un gran número de estudios ha evaluado el papel de factores genéticos del huésped en la respuesta virológica al tratamiento del VHC con resultados controvertidos y asociaciones débiles (revisado por Selzner *et al.* 2008). Sin embargo, recientemente, se ha encontrado una fuerte asociación entre varios SNPs cercanos al gen de la IL28B y la RVS en pacientes mono infectados-VHC y coinfectados-VIH/VHC, lo que demuestra la influencia de factores genéticos del huésped en la actividad del pegIFN y RBV (Ge *et al.* 2009; Suppiah *et al.* 2009; Tanaka *et al.* 2009; Rallón *et al.* 2010; Rauch *et al.* 2010).

En este estudio, encontramos una asociación entre un SNP en el gen *SLC29A1*, que codifica para el transportador de RBV ENT-1, con la respuesta virológica a la terapia con peg-IFN y RBV. Los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 portadores del genotipo GG en rs760370 de *SLC29A1* tenían una probabilidad de más de 15 veces superior de alcanzar RVR comparado con el resto de los pacientes después de ajustar con distintas variables.

No se conoce el impacto del SNP rs760370A>G sobre la expresión y/o actividad del transportador ENT1. Este polimorfismo está localizado en una región no codificante (intrón 12), por lo que podría afectar al splicing alternativo del ARNm o podría estar en desequilibrio de ligamiento con otro polimorfismo no sinónimo asociado con la expresión y/o actividad de ENT1. Dado que ENT1

es el principal transportador de RBV al interior de los hepatocitos, nuestra hipótesis es que cambios en la expresión y/o actividad de este transportador podrían influenciar las concentraciones intrahepáticas de RBV y con ello su actividad antiviral. El genotipo GG podría favorecer una entrada mayor y/o más rápida de RBV en el interior de los hepatocitos, lo que llevaría a un rápido incremento de las concentraciones de RBV en los hepatocitos, potenciando así el efecto antiviral de RBV y, por tanto, la RVR. Estos resultados apoyan que la actividad de la RBV ocurre fundamentalmente durante las primeras semanas de la caída de la carga viral (revisado por Hofmann *et al.* 2008). Hay que tener en cuenta que ENT1 también se expresa en el intestino (Patil *et al.* 1998; Govindarajan *et al.* 2007; Takaai *et al.* 2008) y en el epitelio renal (Mangravite *et al.* 2003), y por tanto, el transporte de RBV a nivel de la absorción y de la excreción también podría estar influenciado por dicho polimorfismo. Sin embargo, hay que destacar que la C_{valle} de RBV no se vio afectada por el SNP rs760370A>G, por lo que es más probable que el efecto del polimorfismo se produzca fundamentalmente a nivel hepático.

El impacto del SNP rs760370A>G sólo se observó en pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 y no en genotipos VHC 2 ó 3. Este resultado puede ser explicado por 2 razones: a) la efectividad del IFN-alfa es menor en genotipos VHC 1 ó 4 que en genotipos VHC 2 ó 3, y por tanto, los genotipos VHC 1 ó 4 son los que más se van a beneficiar de la actividad de la RBV; b) el número de pacientes con genotipos VHC 2 ó 3 del estudio era muy reducido, lo que puede haber limitado el poder estadístico del análisis.

La asociación observada entre el genotipo GG del rs760370A>G y la RVR no se confirmó con la RVS, a pesar de la fuerte asociación existente entre la RVR y la RVS. Hay que tener en cuenta que de los 42 pacientes con genotipos VHC 1 ó 4 que alcanzaron RVS, 19 pacientes (45%) no habían conseguido RVR. Es decir, que la RVR tiene un alto valor predictivo positivo pero menor valor predictivo negativo, y de hecho en este estudio, un gran número de pacientes sin RVR, consiguieron RVS. Otra posible explicación para la aparente desconexión encontrada entre la RVR y la RVS podría estar relacionada con la alta carga viral basal que típicamente se observa en pacientes coinfectados VIH/VHC, lo que impide la posibilidad de alcanzar carga viral indetectable en semana 4. Una caída de la carga viral más lenta en respuesta al tratamiento podría acentuar este efecto (Sherman *et al.* 2005).

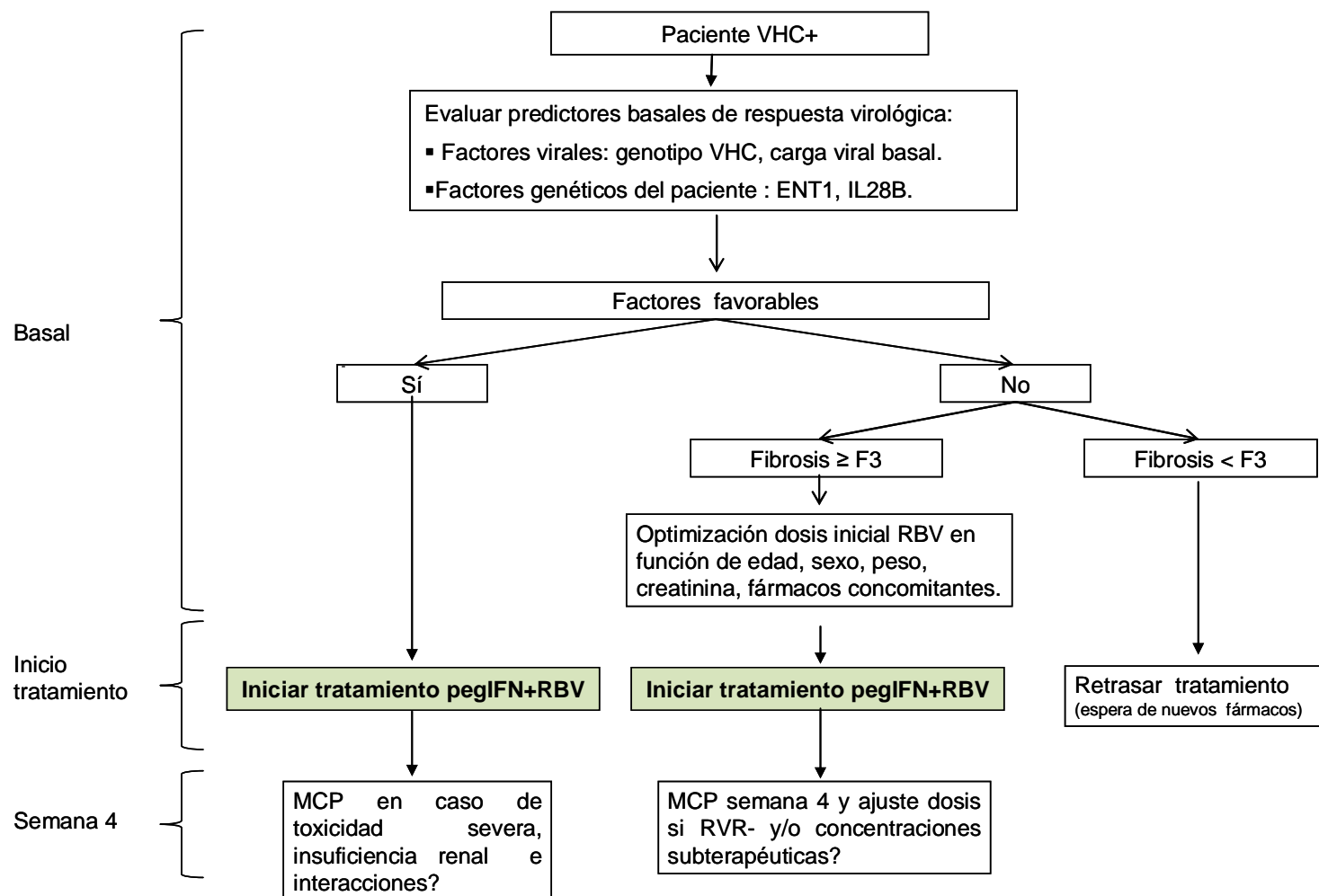
Este estudio tiene varias limitaciones como son el tamaño reducido de la población de estudio y el bajo número de SNPs examinados en el gen *SLC29A1*. Además, hay otros genes candidatos que podrían afectar a la respuesta al tratamiento, como el gen de la *IL28B*. Y por otro lado, existen factores no controlados en nuestro estudio que podrían afectar a la actividad y/o expresión de *ENT1*, como interacciones con alimentos y/o fármacos (ej. fármacos antirretrovirales) y la infección VIH (Guallar *et al.* 2007; Li *et al.* 2009). Finalmente, aunque *ENT1* está ampliamente aceptado como el principal transportador de la RBV al interior de los hepatocitos, otros transportadores alternativos como *ENT2* y *CNT2* podrían participar en el transporte de la RBV en el caso de que la actividad y/o expresión de *ENT1* estuviera reducida (Govindarajan *et al.* 2008; Fukuchi *et al.* 2010).

En conclusión, los resultados de este trabajo apoyan la utilidad de la farmacocinética y farmacogenética de la RBV para individualizar y optimizar la eficacia de la terapia del VHC. La identificación de los factores predictores de respuesta virológica antes de empezar el tratamiento puede resultar muy útil para seleccionar los pacientes que más van a beneficiarse de la combinación de pegIFN-alfa y RBV, permitiendo optimizar la dosis y duración del tratamiento.

En pacientes difíciles de tratar, como los pacientes con genotipos VHC 1 ó 4, la identificación de factores genéticos favorables como el genotipo GG del rs760370A>G, puede estimular el tratamiento, especialmente en presencia de fibrosis avanzada. Por el contrario, en pacientes difíciles de tratar que presentan mínima fibrosis y no tienen factores genéticos favorables, lo más apropiado sería esperar a la llegada de los nuevos antivirales frente al VHC, y así, evitar toxicidad y costes innecesarios. Por último, en pacientes difíciles de tratar que no tienen factores genéticos favorables pero que presentan fibrosis avanzada y, por tanto, es urgente tratar el VHC, la farmacocinética de la RBV podría jugar un papel importante para optimizar el éxito terapéutico. En este grupo de pacientes con baja probabilidad de conseguir respuesta virológica, sería vital optimizar la dosis de RBV y asegurar unas concentraciones óptimas durante el tratamiento.

En la **Figura 31** se propone un esquema de actuación que incluye parámetros farmacocinéticos y farmacogenéticos de la RBV, para optimizar el tratamiento del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC.

Figura 31. Posible esquema de actuación para optimizar el manejo del tratamiento del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC. Integración de parámetros farmacocinéticos y farmacogenéticos de la RBV.



7 CONCLUSIONES

1. El genotipo viral, la carga viral basal y la respuesta virológica rápida, son fuertes predictores de la respuesta virológica sostenida en pacientes coinfectados VIH/VHC, de forma similar a lo descrito en pacientes monoinfectados VHC.
2. La exposición a RBV, evaluada como concentración plasmática valle, juega un papel fundamental en el aclaramiento del VHC, con un efecto reconocible tanto sobre la respuesta virológica rápida como sobre las recaídas.
3. Los pacientes coinfectados VIH/VHC que reciben abacavir como parte de su régimen antirretroviral, tienen mayor riesgo de fracaso virológico, fundamentalmente cuando las concentraciones plasmáticas de RBV son bajas.
4. El polimorfismo rs760370A>G en el gen ENT-1, que codifica el principal transportador de RBV, predice la RVR en pacientes coinfectados VIH/VHC portadores de los genotipos VHC 1 ó 4. El conocimiento de la contribución genética a la variabilidad interindividual en la expresión de los transportadores de RBV podría mejorar las estrategias de tratamiento del VHC.
5. La consideración de factores farmacocinéticos y farmacogenéticos involucrados en la actividad antiviral de la RBV, puede mejorar el manejo del tratamiento del VHC, particularmente en los pacientes coinfectados VIH/VHC difíciles de tratar.

8 BIBLIOGRAFÍA

Abbas Z, Moatter T, Hussainy A, *et al.* **Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3.** *World J Gastroenterol* 2005, **11**:6656-61.

Aguilar MD, Gonzalez dR, Bonora S, *et al.* **The use of trough ribavirin concentration to predict sustained virological response and haematological toxicity in HIV/HCV-co-infected patients treated with ribavirin and pegylated interferon.** *J.Antimicrob.Chemother.* 2008, **61**:919-924.

Amorosa VK, Slim J, Mounzer K, *et al.* **The influence of abacavir and other antiretroviral agents on virological response to HCV therapy among antiretroviral-treated HIV-infected patients.** *Antivir Ther* 2010, **15**:91-9.

Arase Y, Ikeda K, Tsubota A, *et al.* **Significance of serum ribavirin concentration in combination therapy of interferon and ribavirin for chronic hepatitis C.** *Intervirology* 2005, **48**:138-144.

Awad T, Thorlund K, Hauser G, *et al.* **Peginterferon alpha-2a is associated with higher sustained virological response than peginterferon alfa-2b in chronic hepatitis C: systematic review of randomized trials.** *Hepatology* 2010, **51**:1176-84.

Baldwin SA, Beal PR, Yao SY, *et al.* **The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29.** *Pflugers Arch* 2004, **447**:735-43.

Bani-Sadr F, Denoeud L, Morand P, *et al.* **Early virologic failure in HIV-coinfected hepatitis C patients treated with the peginterferon-ribavirin combination: does abacavir play a role?** *J.Acquir.Immune.Defic.Syndr.* 2007, **45**:123-125.

Barreiro P, Martin-Carbonero L, Nunez M, *et al.* **Predictors of liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection: assessment using transient elastometry and the role of HCV genotype 3.** *Clin Infect Dis* 2006, **42**:1032-9.

Breilh D, Foucher J, Castera L, *et al.* **Impact of ribavirin plasma level on sustained virological response in patients treated with pegylated interferon and ribavirin for chronic hepatitis C.** *Aliment Pharmacol Ther* 2009, **30**:487-94.

Bruchfeld A, Lindahl K, Reichard O, *et al.* **Pegylated interferon and ribavirin in haemodialysis patients.** *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21**:1444-5; author reply 1445-6.

Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R, *et al.* **Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis.** *Ther Drug Monit* 2002, **24**:701-8.

Bruchfeld A, Lindahl K, Stahle L, *et al.* **Interferon and ribavirin treatment in patients with hepatitis C-associated renal disease and renal insufficiency.** *Nephrol Dial Transplant* 2003, **18**:1573-80.

Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, *et al.* **Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial.** *JAMA* 2004, **292**:2839-2848.

Castera L, Vergniol J, Foucher J, *et al.* **Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C.** *Gastroenterology* 2005, **128**:343-50.

Castet V, Fournier C, Soulier A, *et al.* **Alpha interferon inhibits hepatitis C virus replication in primary human hepatocytes infected in vitro.** *J Virol* 2002, **76**:8189-99.

Coe IR, Griffiths M, Young JD, *et al.* **Assignment of the human equilibrative nucleoside transporter (hENT1) to 6p21.1-p21.2.** *Genomics* 1997, **45**:459-60.

Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, *et al.* **Peginterferon alpha-2b plus ribavirin vs interferon alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients.** *J Viral Hepat* 2007, **14**:228-38.

Cribier B, Schmitt C, Rey D, *et al.* **HIV increases hepatitis C viraemia irrespective of the hepatitis C virus genotype.** *Res Virol* 1997, **148**:267-71.

Chan AH, Partovi N, Ensom MH. **The utility of therapeutic drug monitoring for ribavirin in patients with chronic hepatitis C--a critical review.** *Ann Pharmacother* 2009, **43**:2044-63.

Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, *et al.* **Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome.** *Science* 1989, **244**:359-62.

Chung RT, Andersen J, Volberding P, *et al.* **Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons.** *N.Engl.J.Med.* 2004, **351**:451-459.

Daar ES, Lynn H, Donfield S, *et al.* **Relation between HIV-1 and hepatitis C viral load in patients with hemophilia.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001, **26**:466-72.

Dahari H, Markatou M, Zeremski M, *et al.* **Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin.** *J Hepatol* 2007, **47**:23-30.

Dai CY, Chuang WL, Chang WY, *et al.* **Tumor necrosis factor- alpha promoter polymorphism at position -308 predicts response to combination therapy in hepatitis C virus infection.** *J Infect Dis* 2006, **193**:98-101.

Danta M, Brown D, Bhagani S, *et al.* **Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours.** *AIDS* 2007, **21**:983-91.

de Ledinghen V, Douvin C, Kettaneh A, *et al.* **Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006, **41**:175-9.

Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, *et al.* **Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection.** *Nature* 2004, **432**:922-4.

Dixit NM, Perelson AS. **The metabolism, pharmacokinetics and mechanisms of antiviral activity of ribavirin against hepatitis C virus.** *Cell Mol Life Sci* 2006, **63**:832-42.

Donnerer J, Grahovac M, Stelzl E, *et al.* **Ribavirin levels and haemoglobin decline in early virological responders and non-responders to hepatitis C virus combination therapy.** *Pharmacology* 2006, **76**:136-40.

Dumortier J, Ducos E, Scoazec JY, *et al.* **Plasma ribavirin concentrations during treatment of recurrent hepatitis C with peginterferon alpha-2b and ribavirin combination after liver transplantation.** *J Viral Hepat* 2006, **13**:538-43.

Dustin LB, Rice CM. **Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C.** *Annu Rev Immunol* 2007, **25**:71-99.

Dutoit V, Ciuffreda D, Comte D, *et al.* **Differences in HCV-specific T cell responses between chronic HCV infection and HIV/HCV co-infection.** *Eur J Immunol* 2005, **35**:3493-504.

Edwards-Smith CJ, Jonsson JR, Purdie DM, *et al.* **Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alfa.** *Hepatology* 1999, **30**:526-530.

Endres CJ, Moss AM, Govindarajan R, *et al.* **The role of nucleoside transporters in the erythrocyte disposition and oral absorption of ribavirin in the wild-type and equilibrative nucleoside transporter 1-/- mice.** *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2009, **331**:287-296.

Endres CJ, Moss AM, Ke B, *et al.* **The role of the equilibrative nucleoside transporter 1 (ENT1) in transport and metabolism of ribavirin by human and wild-type or Ent1-/- mouse erythrocytes.** *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2009, **329**:387-398.

Endres CJ, Sengupta DJ, Unadkat JD. **Mutation of leucine-92 selectively reduces the apparent affinity of inosine, guanosine, NBMPR [S6-(4-nitrobenzyl)-mercaptopurine riboside] and dilazep for the human equilibrative nucleoside transporter, hENT1.** *Biochem J* 2004, **380**:131-7.

Endres CJ, Unadkat JD. **Residues Met89 and Ser160 in the human equilibrative nucleoside transporter 1 affect its affinity for adenosine, guanosine, S6-(4-nitrobenzyl)-mercaptopurine riboside, and dipyridamole.** *Mol Pharmacol* 2005, **67**:837-44.

Fabian J, Katz I, Gerntholtz T, *et al.* **Chronic kidney disease in human immunodeficiency virus infection.** *Panminerva Med* 2007, **49**:51-66.

Feld JJ, Hoofnagle JH. **Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C.** *Nature* 2005, **436**:967-972.

Feld JJ, Lutchman GA, Heller T, *et al.* **Ribavirin improves early responses to peginterferon through enhanced interferon signaling.** *Gastroenterology* 2010,

Fellay J, Thompson AJ, Ge D, *et al.* **ITPA gene variants protect against anaemia in patients treated for chronic hepatitis C.** *Nature* 2010, **464**:405-8.

Foster GR. **Pegylated interferons for the treatment of chronic hepatitis C: pharmacological and clinical differences between peginterferon-alpha-2a and peginterferon-alpha-2b.** *Drugs* 2010, **70**:147-65.

Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, *et al.* **Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection.** *N.Engl.J.Med.* 2002, **347**:975-982.

Fukuchi Y, Furihata T, Hashizume M, *et al.* **Characterization of ribavirin uptake systems in human hepatocytes.** *J Hepatol* 2010, **52**:486-492.

Ge D, Fellay J, Thompson AJ, *et al.* **Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance.** *Nature* 2009, **461**:399-401.

Glue P. **The clinical pharmacology of ribavirin.** *Semin Liver Dis* 1999, **19 Suppl 1**:17-24.

Govindarajan R, Bakken AH, Hudkins KL, *et al.* **In situ hybridization and immunolocalization of concentrative and equilibrative nucleoside transporters in the human intestine, liver, kidneys, and placenta.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007, **293**:R1809-22.

Govindarajan R, Endres CJ, Whittington D, *et al.* **Expression and hepatobiliary transport characteristics of the concentrative and equilibrative nucleoside transporters in sandwich-cultured human hepatocytes.** *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol* 2008, **295**:G570-G580.

Graham CS, Baden LR, Yu E, *et al.* **Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis.** *Clin Infect Dis* 2001, **33**:562-9.

Gray JH, Owen RP, Giacomini KM. **The concentrative nucleoside transporter family, SLC28.** *Pflugers Arch* 2004, **447**:728-34.

Griffiths M, Beaumont N, Yao SY, *et al.* **Cloning of a human nucleoside transporter implicated in the cellular uptake of adenosine and chemotherapeutic drugs.** *Nat Med* 1997, **3**:89-93.

Guallar JP, Cano-Soldado P, Aymerich I, *et al.* **Altered expression of nucleoside transporter genes (SLC28 and SLC29) in adipose tissue from HIV-1-infected patients.** *Antivir Ther* 2007, **12**:853-63.

Guo JT, Bichko VV, Seeger C. **Effect of alpha interferon on the hepatitis C virus replicon.** *J Virol* 2001, **75**:8516-23.

Hezode C, Forestier N, Dusheiko G, *et al.* **Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection.** *N.Engl.J.Med.* 2009, **360**:1839-1850.

Hijikata M, Mishiro S, Miyamoto C, *et al.* **Genetic polymorphism of the MxR gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patients: revisited by analyzing two SNP sites (-123 and -88) in vivo and in vitro.** *Intervirology* 2001, **44**:379-382.

Hmwe SS, Aizaki H, Date T, *et al.* **Identification of hepatitis C virus genotype 2a replicon variants with reduced susceptibility to ribavirin.** *Antiviral Res* 2010,

Hofmann WP, Herrmann E, Sarrazin C, *et al.* **Ribavirin mode of action in chronic hepatitis C: from clinical use back to molecular mechanisms.** *Liver Int.* 2008, **28**:1332-1343.

Huang Y, Yang H, Borg BB, *et al.* **A functional SNP of interferon-gamma gene is important for interferon-alpha-induced and spontaneous recovery from hepatitis C virus infection.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007, **104**:985-90.

Hung CH, Lee CM, Lu SN, *et al.* **Anemia associated with antiviral therapy in chronic hepatitis C: incidence, risk factors, and impact on treatment response.** *Liver Int* 2006, **26**:1079-86.

Ibarra KD, Pfeiffer JK. **Reduced ribavirin antiviral efficacy via nucleoside transporter-mediated drug resistance.** *J. Virol.* 2009, **83**:4538-4547.

Inoue Y, Homma M, Matsuzaki Y, *et al.* **Erythrocyte ribavirin concentration for assessing hemoglobin reduction in interferon and ribavirin combination therapy.** *Hepatol Res* 2006, **34**:23-7.

Jarvis SM, Thorn JA, Glue P. **Ribavirin uptake by human erythrocytes and the involvement of nitrobenzylthioinosine-sensitive (es)-nucleoside transporters.** *Br.J.Pharmacol.* 1998, **123**:1587-1592.

Jen J, Laughlin M, Chung C, *et al.* **Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models.** *Clin Pharmacol Ther* 2002, **72**:349-61.

Jen JF, Glue P, Gupta S, *et al.* **Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C.** *Ther.Drug Monit.* 2000, **22**:555-565.

Ji X, Cheung R, Cooper S, *et al.* **Interferon alfa regulated gene expression in patients initiating interferon treatment for chronic hepatitis C.** *Hepatology* 2003, **37**:610-21.

Jonsson JR, Purdie DM, Clouston AD, *et al.* **Recognition of genetic factors influencing the progression of hepatitis C : potential for personalized therapy.** *Mol Diagn Ther* 2008, **12**:209-18.

Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, *et al.* **Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR.** *Genes Immun.* 2003, **4**:411-419.

Knobel H, Alonso J, Casado JL, *et al.* **Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study.** *AIDS* 2002, **16**:605-613.

Labarga P, Vispo E, Barreiro P, *et al.* **Rate and predictors of success in the retreatment of chronic hepatitis C virus in HIV/hepatitis C Virus coinfectd patients with prior nonresponse or relapse.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010, **53**:364-8.

Laguno M, Murillas J, Blanco JL, *et al.* **Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.** *AIDS* 2004, **18**:F27-F36.

Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, *et al.* **Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C.** *Antimicrob Agents Chemother* 2003, **47**:124-9.

Laufer N, Laguno M, Perez I, *et al.* **Abacavir does not influence the rate of virological response in HIV-HCV-coinfectd patients treated with pegylated interferon and weight-adjusted ribavirin.** *Antivir Ther* 2008, **13**:953-7.

Li L, Koo SH, Limenta LM, *et al.* **Effect of dietary purines on the pharmacokinetics of orally administered ribavirin.** *J Clin Pharmacol* 2009, **49**:661-7.

Lindahl K, Schvarcz R, Bruchfeld A, *et al.* **Evidence that plasma concentration rather than dose per kilogram body weight predicts ribavirin-induced anaemia.** *J Viral Hepat* 2004, **11**:84-7.

Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, *et al.* **High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C.** *Hepatology* 2005, **41**:275-279.

Lopez-Cortes LF, Valera-Bestard B, Gutierrez-Valencia A, *et al.* **Role of pegylated interferon-alpha-2a and ribavirin concentrations in sustained viral response in HCV/HIV-coinfected patients.** *Clin Pharmacol Ther* 2008, **84**:573-80.

Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A, *et al.* **Ribavirin exposure after the first dose is predictive of sustained virological response in chronic hepatitis C.** *Hepatology* 2008, **47**:1453-1461.

Macias J, Recio E, Vispo E, *et al.* **Application of transient elastometry to differentiate mild from moderate to severe liver fibrosis in HIV/HCV co-infected patients.** *J Hepatol* 2008, **49**:916-22.

Maeda Y, Kiribayashi Y, Moriya T, *et al.* **Dosage adjustment of ribavirin based on renal function in Japanese patients with chronic hepatitis C.** *Ther Drug Monit* 2004, **26**:9-15.

Mangravite LM, Xiao G, Giacomini KM. **Localization of human equilibrative nucleoside transporters, hENT1 and hENT2, in renal epithelial cells.** *Am.J.Physiol Renal Physiol* 2003, **284**:F902-F910.

Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, *et al.* **Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial.** *Lancet* 2001, **358**:958-965.

Marcolongo M, Young B, Dal Pero F, *et al.* **A seven-gene signature (cirrhosis risk score) predicts liver fibrosis progression in patients with initially mild chronic hepatitis C.** *Hepatology* 2009, **50**:1038-44.

Martin-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, *et al.* **Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study.** *Clin.Infect.Dis.* 2004, **38**:128-133.

Matsuyama N, Mishiro S, Sugimoto M, *et al.* **The dinucleotide microsatellite polymorphism of the IFNAR1 gene promoter correlates with responsiveness of hepatitis C patients to interferon.** *Hepatol Res* 2003, **25**:221-225.

Maylin S, Martinot-Peignoux M, Ripault M-P, *et al.* **Sustained virological response is associated with clearance of hepatitis C virus RNA and a decrease in hepatitis C virus antibody.** *Liver Int* 2009, **29**:511-517.

Maynard M, Pradat P, Gagnieu MC, *et al.* **Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients.** *Antivir.Ther.* 2008, **13**:607-611.

McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, *et al.* **Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group.** *N Engl J Med* 1998, **339**:1485-92.

Mira JA, Lopez-Cortes LF, Barreiro P, *et al.* **Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin treatment in HIV/hepatitis C virus co-infected patients receiving abacavir plus lamivudine or tenofovir plus either lamivudine or emtricitabine as nucleoside analogue backbone.** *J.Antimicrob.Chemother.* 2008, **62**:1365-1373.

Modi AA, Feld JJ. **Viral hepatitis and HIV in Africa.** *AIDS Rev* 2007, **9**:25-39.

Morello J, Rodriguez-Novoa S, Cantillano AL, *et al.* **Measurement of ribavirin plasma concentrations by high-performance liquid chromatography using a novel solid-phase extraction method in patients treated for chronic hepatitis C.** *Ther.Drug Monit.* 2007, **29**:802-806.

Morello J, Rodriguez-Novoa S, Jimenez-Nacher I, *et al.* **Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment**

response in patients with chronic hepatitis C. *J.Antimicrob.Chemother.* 2008, **62**:1174-1180.

Morgan TR, Lambrecht RW, Bonkovsky HL, *et al.* **DNA polymorphisms and response to treatment in patients with chronic hepatitis C: results from the HALT-C trial.** *J.Hepatol.* 2008, **49**:548-556.

Myers SN, Goyal RK, Roy JD, *et al.* **Functional single nucleotide polymorphism haplotypes in the human equilibrative nucleoside transporter 1.** *Pharmacogenet Genomics* 2006, **16**:315-20.

Naito M, Matsui A, Inao M, *et al.* **SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in patients with chronic hepatitis C.** *J Gastroenterol* 2005, **40**:381-8.

Neumann AU, Lam NP, Dahari H, *et al.* **Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy.** *Science* 1998, **282**:103-7.

Nicot F, Legrand-Abravanel F, Lafont T, *et al.* **Serum concentrations of ribavirin and pegylated interferon and viral responses in patients infected with HIV and HCV.** *J Med Virol* 2008, **80**:1523-9.

Nivillac NM, Wasal K, Villani DF, *et al.* **Disrupted plasma membrane localization and loss of function reveal regions of human equilibrative nucleoside transporter 1 involved in structural integrity and activity.** *Biochim Biophys Acta* 2009, **1788**:2326-34.

Núñez M, Marino A, Miralles C, *et al.* **Baseline serum hepatitis C virus (HCV) RNA level and response at week 4 are the best predictors of relapse after treatment with pegylated interferon plus ribavirin in HIV/HCV-coinfected patients.** *J.Acquir.Immune.Defic.Syndr.* 2007, **45**:439-444.

Núñez M, Miralles C, Berdun MA, *et al.* **Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PRESCO trial.** *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2007, **23**:972-982.

Okuda M, Li K, Beard MR, *et al.* **Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein.** *Gastroenterology* 2002, **122**:366-75.

Osato DH, Huang CC, Kawamoto M, *et al.* **Functional characterization in yeast of genetic variants in the human equilibrative nucleoside transporter, ENT1.** *Pharmacogenetics* 2003, **13**:297-301.

Paproski RJ, Visser F, Zhang J, *et al.* **Mutation of Trp29 of human equilibrative nucleoside transporter 1 alters affinity for coronary vasodilator drugs and nucleoside selectivity.** *Biochem J* 2008, **414**:291-300.

Patil SD, Ngo LY, Glue P, *et al.* **Intestinal absorption of ribavirin is preferentially mediated by the Na⁺-nucleoside purine (N1) transporter.** *Pharm.Res.* 1998, **15**:950-952.

Pawlotsky JM. **Mechanisms of antiviral treatment efficacy and failure in chronic hepatitis C.** *Antiviral Res* 2003, **59**:1-11.

Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU, *et al.* **Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C.** *Gastroenterology* 2004, **126**:703-14.

Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Homoncik-Kraml M, *et al.* **Rapid suppression of hematopoiesis by standard or pegylated interferon-alpha.** *Gastroenterology* 2002, **123**:141-51.

Penin F, Dubuisson J, Rey FA, *et al.* **Structural biology of hepatitis C virus.** *Hepatology* 2004, **39**:5-19.

Pestka S. **The human interferon alpha species and receptors.** *Biopolymers* 2000, **55**:254-87.

Pfeiffer JK, Kirkegaard K. **Ribavirin resistance in hepatitis C virus replicon-containing cell lines conferred by changes in the cell line or mutations in the replicon RNA.** *J Virol* 2005, **79**:2346-55.

Pineda JA, Garcia-Garcia JA, Aguilar-Guisado M, *et al.* **Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human**

immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology* 2007, **46**:622-30.

Polyak SJ, Faulkner G, Carithers RL, Jr., *et al.* **Assessment of hepatitis C virus quasispecies heterogeneity by gel shift analysis: correlation with response to interferon therapy.** *J Infect Dis* 1997, **175**:1101-7.

Poynard T, Marcellin P, Lee SS, *et al.* **Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus.** International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998, **352**:1426-32.

Racanelli V, Rehermann B. **Hepatitis C virus infection: when silence is deception.** *Trends Immunol* 2003, **24**:456-64.

Radaeva S, Jaruga B, Hong F, *et al.* **Interferon-alpha activates multiple STAT signals and down-regulates c-Met in primary human hepatocytes.** *Gastroenterology* 2002, **122**:1020-34.

Rallón NI, Naggie S, Benito JM, *et al.* **Association of a single nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene with response to hepatitis C therapy in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients.** *AIDS* 2010, **24**:F23-9.

Ramos B, Nunez M, Rendon A, *et al.* **Critical role of ribavirin for the achievement of early virological response to HCV therapy in HCV/HIV-coinfected patients.** *J. Viral Hepat.* 2007, **14**:387-391.

Rauch A, Gaudieri S, Thio C, *et al.* **Host genetic determinants of spontaneous hepatitis C clearance.** *Pharmacogenomics* 2009, **10**:1819-37.

Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, *et al.* **Genetic Variation in IL28B Is Associated With Chronic Hepatitis C and Treatment Failure: A Genome-Wide Association Study.** *Gastroenterology* 2010, **138**:1338-1345 e7.

Rauch A, Rickenbach M, Weber R, *et al.* **Unsafe sex and increased incidence of hepatitis C virus infection among HIV-infected men who have sex with men: the Swiss HIV Cohort Study.** *Clin Infect Dis* 2005, **41**:395-402.

Reddy KR, Shiffman ML, Morgan TR, *et al.* **Impact of ribavirin dose reductions in hepatitis C virus genotype 1 patients completing peginterferon alfa-2a/ribavirin treatment.** *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007, **5**:124-9.

Rendina M, Schena A, Castellaneta NM, *et al.* **The treatment of chronic hepatitis C with peginterferon alfa-2a (40 kDa) plus ribavirin in haemodialysed patients awaiting renal transplant.** *J Hepatol* 2007, **46**:768-74.

Rendon AL, Nunez M, Romero M, *et al.* **Early monitoring of ribavirin plasma concentrations may predict anemia and early virologic response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients.** *J.Acquir.Immune.Defic.Syindr.* 2005, **39**:401-405.

Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, *et al.* **European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults.** *HIV Med* 2008, **9**:82-8.

Rockstroh JK, Mocroft A, Soriano V, *et al.* **Influence of hepatitis C virus infection on HIV-1 disease progression and response to highly active antiretroviral therapy.** *J Infect Dis* 2005, **192**:992-1002.

Romero-Gomez M, Gonzalez-Escribano MF, Torres B, *et al.* **HLA class I B44 is associated with sustained response to interferon + ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C.** *Am J Gastroenterol* 2003, **98**:1621-6.

Rong L, Dahari H, Ribeiro RM, *et al.* **Rapid emergence of protease inhibitor resistance in hepatitis C virus.** *Sci Transl Med* 2010, **2**:30ra32.

Saito H, Tada S, Ebinuma H, *et al.* **Role of erythrocytes as a reservoir for ribavirin and relationship with adverse reactions in the early phase of**

interferon combination therapy for chronic hepatitis C virus infections. *J Clin Microbiol* 2006, **44**:3562-8.

Selzner N, Chen L, Borozan I, *et al.* **Hepatic gene expression and prediction of therapy response in chronic hepatitis C patients.** *J Hepatol* 2008, **48**:708-13.

Selzner N, McGilvray I. **Can genetic variations predict HCV treatment outcomes?** *J Hepatol* 2008, **49**:494-7.

SenGupta DJ, Lum PY, Lai Y, *et al.* **A single glycine mutation in the equilibrative nucleoside transporter gene, hENT1, alters nucleoside transport activity and sensitivity to nitrobenzylthioinosine.** *Biochemistry* 2002, **41**:1512-9.

SenGupta DJ, Unadkat JD. **Glycine 154 of the equilibrative nucleoside transporter, hENT1, is important for nucleoside transport and for conferring sensitivity to the inhibitors nitrobenzylthioinosine, dipyridamole, and dilazep.** *Biochem Pharmacol* 2004, **67**:453-8.

Sherman KE, Shire NJ, Rouster SD, *et al.* **Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients.** *Gastroenterology* 2005, **128**:313-27.

Shin JY, Hur W, Wang JS, *et al.* **HCV core protein promotes liver fibrogenesis via up-regulation of CTGF with TGF-beta1.** *Exp Mol Med* 2005, **37**:138-45.

Shirakawa H, Matsumoto A, Joshita S, *et al.* **Pretreatment prediction of virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients using viral and host factors.** *Hepatology* 2008, **48**:1753-60.

Sim H, Wojcik J, Margulies M, *et al.* **Response to interferon therapy: influence of human leucocyte antigen alleles in patients with chronic hepatitis C.** *J Viral Hepat* 1998, **5**:249-53.

Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, *et al.* **Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region.** *J Gen Virol* 1993, **74** (Pt 11):2391-9.

Snoeck E, Wade JR, Duff F, *et al.* **Predicting sustained virological response and anaemia in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin.** *Br J Clin Pharmacol* 2006, **62**:699-709.

Soriano V, Mocroft A, Rockstroh J, *et al.* **Spontaneous viral clearance, viral load, and genotype distribution of hepatitis C virus (HCV) in HIV-infected patients with anti-HCV antibodies in Europe.** *J Infect Dis* 2008, **198**:1337-44.

Soriano V, Perelson AS, Zoulim F. **Why are there different dynamics in the selection of drug resistance in HIV and hepatitis B and C viruses?** *J Antimicrob Chemother* 2008, **62**:1-4.

Soriano V, Perez-Olmeda M, Rios P, *et al.* **Hepatitis C virus (HCV) relapses after anti-HCV therapy are more frequent in HIV-infected patients.** *AIDS Res.Hum.Retroviruses* 2004, **20**:351-353.

Soriano V, Puoti M, Garcia-Gasco P, *et al.* **Antiretroviral drugs and liver injury.** *AIDS* 2008, **22**:1-13.

Soriano V, Vispo E, Labarga P, *et al.* **Viral hepatitis and HIV co-infection.** *Antiviral Res* 2010, **85**:303-15.

Sulkowski MS, Wasserman R, Brooks L, *et al.* **Changes in haemoglobin during interferon alpha-2b plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C virus infection.** *J Viral Hepat* 2004, **11**:243-50.

Sundaram M, Yao SY, Ingram JC, *et al.* **Topology of a human equilibrative, nitrobenzylthioinosine (NBMPR)-sensitive nucleoside transporter (hENT1) implicated in the cellular uptake of adenosine and anti-cancer drugs.** *J Biol Chem* 2001, **276**:45270-5.

Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, *et al.* **IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy.** *Nat.Genet.* 2009, **41**:1100-1104.

Suzuki F, Arase Y, Suzuki Y, *et al.* **Single nucleotide polymorphism of the MxA gene promoter influences the response to interferon monotherapy in patients with hepatitis C viral infection.** *J.Viral Hepat.* 2004, **11**:271-276.

Takaai M, Morishita H, Ishida K, *et al.* **Contribution of Na⁺-independent nucleoside transport to ribavirin uptake in the rat intestine and human epithelial LS180 cells.** *Eur J Pharmacol* 2008, **601**:61-5.

Tanaka H, Miyano M, Ueda H, *et al.* **Changes in serum and red blood cell membrane lipids in patients treated with interferon ribavirin for chronic hepatitis C.** *Clin Exp Med* 2005, **5**:190-5.

Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, *et al.* **Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.** *Nat.Genet.* 2009, **41**:1105-1109.

Tanikawa K. **Pathogenesis and treatment of hepatitis C virus-related liver diseases.** *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004, **3**:17-20.

Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, *et al.* **Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients.** *N.Engl.J.Med.* 2004, **351**:438-450.

Tsubota A, Hirose Y, Izumi N, *et al.* **Pharmacokinetics of ribavirin in combined interferon-alpha 2b and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus infection.** *Br.J.Clin.Pharmacol.* 2003, **55**:360-367.

Tsukada H, Ochi H, Maekawa T, *et al.* **A polymorphism in MAPKAPK3 affects response to interferon therapy for chronic hepatitis C.** *Gastroenterology* 2009, **136**:1796-805 e6.

Uchida M, Hamada A, Yamasaki M, *et al.* **Assessment of adverse reactions and pharmacokinetics of ribavirin in combination with interferon alpha-2b**

in patients with chronic hepatitis C. *Drug Metab Pharmacokinet* 2004, **19**:438-43.

van Leusen R, Adang RP, de Vries RA, *et al.* **Pegylated interferon alfa-2a (40 kD) and ribavirin in haemodialysis patients with chronic hepatitis C.** *Nephrol Dial Transplant* 2008, **23**:721-5.

Van Vlierbergh H, Delanghe JR, De Vos M, *et al.* **Factors influencing ribavirin-induced hemolysis.** *J Hepatol* 2001, **34**:911-6.

Vidigal PG, Germer JJ, Zein NN. **Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin.** *J.Hepatol.* 2002, **36**:271-277.

Vispo E, Barreiro P, Pineda JA, *et al.* **Low response to pegylated interferon plus ribavirin in HIV-infected patients with chronic hepatitis C treated with abacavir.** *Antivir.Ther.* 2008, **13**:429-437.

Vispo E, Barreiro P, Rodriguez-Novoa S, *et al.* **Distinct hepatitis C virus kinetics in HIV-infected patients treated with ribavirin plus either pegylated interferon alpha2a or alpha2b.** *Antivir Ther* 2008, **13**:511-7.

Vispo E, Labarga P, Guardiola JM, *et al.* **Preemptive erythropoietin plus high ribavirin doses to increase rapid virological responses in HIV patients treated for chronic hepatitis C.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010, **26**:419-24.

Visser F, Baldwin SA, Isaac RE, *et al.* **Identification and mutational analysis of amino acid residues involved in dipyridamole interactions with human and *Caenorhabditis elegans* equilibrative nucleoside transporters.** *J Biol Chem* 2005, **280**:11025-34.

Visser F, Vickers MF, Ng AM, *et al.* **Mutation of residue 33 of human equilibrative nucleoside transporters 1 and 2 alters sensitivity to inhibition of transport by dilazep and dipyridamole.** *J Biol Chem* 2002, **277**:395-401.

Voigt E, Schulz C, Klausen G, *et al.* **Pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients.** *J.Infect.* 2006, **53**:36-42.

Wade JR, Snoeck E, Duff F, *et al.* **Pharmacokinetics of ribavirin in patients with hepatitis C virus.** *Br J Clin Pharmacol* 2006, **62**:710-4.

Wawrzynowicz-Syczewska M, Underhill JA, Clare MA, *et al.* **HLA class II genotypes associated with chronic hepatitis C virus infection and response to alpha-interferon treatment in Poland.** *Liver* 2000, **20**:234-9.

Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, *et al.* **Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study.** *Arch.Intern.Med.* 2006, **166**:1632-1641.

Welzel TM, Morgan TR, Bonkovsky HL, *et al.* **Variants in interferon-alpha pathway genes and response to pegylated interferon-Alpha2a plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C virus infection in the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial.** *Hepatology* 2009, **49**:1847-58.

Winnock M, Salmon-Ceron D, Dabis F, *et al.* **Interaction between HIV-1 and HCV infections: towards a new entity?** *J Antimicrob Chemother* 2004, **53**:936-46.

Wohnsland A, Hofmann WP, Sarrazin C. **Viral determinants of resistance to treatment in patients with hepatitis C.** *Clin Microbiol Rev* 2007, **20**:23-38.

Yamamoto T, Kuniki K, Takekuma Y, *et al.* **Ribavirin uptake by cultured human choriocarcinoma (BeWo) cells and *Xenopus laevis* oocytes expressing recombinant plasma membrane human nucleoside transporters.** *Eur.J.Pharmacol.* 2007, **557**:1-8.

Yee LJ, Tang J, Gibson AW, *et al.* **Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection.** *Hepatology* 2001, **33**:708-712.

Young KC, Lindsay KL, Lee KJ, *et al.* **Identification of a ribavirin-resistant NS5B mutation of hepatitis C virus during ribavirin monotherapy.** *Hepatology* 2003, **38**:869-78.

Yu ML, Dai CY, Chen SC, *et al.* **Human leukocyte antigen class I and II alleles and response to interferon-alpha treatment, in Taiwanese patients with chronic hepatitis C virus infection.** *J Infect Dis* 2003, **188**:62-5.

Zimmerman EI, Huang M, Leisewitz AV, *et al.* **Identification of a novel point mutation in ENT1 that confers resistance to Ara-C in human T cell leukemia CCRF-CEM cells.** *FEBS Lett* 2009, **583**:425-9.

Anexo 1. Publicaciones derivadas de esta tesis

- **Morello J**, Cuenca L, Soriano V, Medrano J, Madejón A, Vispo E, Barreiro P, Labarga P, Jiménez-Nácher I, Rodríguez-Nóvoa S. Influence of a single nucleotide polymorphism at the main ribavirin transporter gene on the rapid virological response to pegylated interferon-ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis.* 2010, 202(8):1185-91.
- Rodríguez-Nóvoa S, Cuenca L, **Morello J**, Córdoba M, Blanco F, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Use of the HCP5 single nucleotide polymorphism to predict hypersensitivity reactions to abacavir: correlation with HLA-B*5701. *J Antimicrob Chemother.* 2010, 65(8):1567-9.
- Vispo E, Labarga P, Guardiola JM, Barreiro P, Miralles C, Rubio R, Miralles P, Aguirrebengoa K, Portu J, **Morello J**, Rodríguez-Nóvoa S, Soriano V. Preemptive erythropoietin plus high ribavirin doses to increase rapid virological responses in HIV patients for chronic hepatitis C. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010, 26(4):419-24.
- Labarga P, Medrano J, Seclén E, Poveda E, Rodríguez-Nóvoa S, **Morello J**, de Mendoza C, Vispo E, Soriano V. Safety and efficacy of tenofovir/emtricitabine plus nevirapine in HIV-infected patients. *AIDS.* 2010, 24 (5):777-9.
- Labarga P, Vispo E, Barreiro P, Rodríguez-Novoa S, Pinilla J, **Morello J**, Martín-Carbonero L, Tuma P, Medrano J, Soriano V. Rate and predictors of success in the retreatment of chronic hepatitis C virus in HIV/HCV-coinfected patients with prior nonresponse or relapse. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010, 53:364-8.

- **Morello J**, Soriano V, Barreiro P, Medrano J, Madejón A, González-Pardo G, Jiménez-Nácher I, González-Lahoz J, Rodríguez-Novoa S. Plasma ribavirin trough concentrations at week 4 predict HCV relapse in HIV/HCV-coinfected patients treated for chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010, 54(4):1647-9.
- **Morello J**, Rodríguez-Novoa S, Blanco F, Vispo E, Barreiro P, Gonzalez-Pardo G, Jiménez-Nácher I, González-Lahoz J, Soriano V. The benefit of simplification from tipranavir/ritonavir 500/200 BID to 500/100 BID guided by therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monitor.* 2010, 32(2):242-4.
- **Morello J**, Rodríguez-Nóvoa, S. Antiretroviral drugs – Once Versus Twice a Day. *AIDS Rev.* 2009, 11:175-6.
- **Morello J**, de Mendoza C, Soriano V, Anta L, González-Pardo G, Corral A, Blanco F, Jiménez-Nácher I, González-Lahoz J, Rodríguez-Novoa S. Use of different inhibitory quotients to predict early virological response to tipranavir in antiretroviral-experienced human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009, 53(10):4153-8.
- **Morello J**, Soriano V, Blanco F, Rubio AJ, Jiménez-Nácher I, Rodríguez-Nóvoa S. Differences in lopinavir plasma concentrations comparing Kaletra film coated tablets and soft gelatine capsules that result in various lipid abnormalities. *Drug Metabolism Letters.* 2009 3(2):67-9.
- Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, **Morello J**, Cuenca L, González-Pardo G, Khoo S, Back D and Owen A. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV patients treated with Tenofovir - A pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis* 2009. 48(11):e108-16.

- Rivas P, **Morello J**, Garrido C, Rodríguez-Nóvoa S, Soriano V. Role of atazanavir in the treatment of HIV infection. *Ther Clin Risk Manag*. 2009 5(1):99-116.
- Briz V, Garrido C, Poveda E, **Morello J**, Barreiro P, de Mendoza C, Soriano V. Raltegravir and etravirine are active against HIV type 1 group O. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009, 25(2):225-7.
- Rodríguez-Nóvoa S, **Morello J**, González M, Vispo E, Barreiro P, González-Pardo G, Jiménez-Nácher I, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Increase in serum bilirubin in HIV/hepatitis-C virus-coinfected patients on atazanavir therapy following initiation of pegylated-interferon and ribavirin. *AIDS*. 2008, 22(18):2535-7.
- **Morello J**, Rodríguez-Novoa S, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment response in patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother*. 2008, 62(6):1174-80.
- Vispo E, Barreiro P, Rodriguez-Nóvoa S, **Morello J**, Labarga P, Martín-Carbonero L, Maida I, García-Gascó P, Soriano V. Distinct hepatitis C virus kinetics in HIV-infected patients treated with ribavirin plus either pegylated interferon alpha2a or alpha2b. *Antivir Ther*. 2008 13(4):511-7.
- Jiménez-Nácher I, García B, Barreiro P, Rodriguez-Novoa S, **Morello J**, González-Lahoz J, de Mendoza C, Soriano V. Trends in the prescription of antiretroviral drugs and impact on plasma HIV-RNA measurements. *J Antimicrob Chemother* 2008. 62(4):816-822.
- Rodríguez-Nóvoa S, **Morello J**, Barreiro P, Maida I, García-Gascó P, Vispo E, González-Pardo G, Parra A, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Switch from

ritonavir-boosted to unboosted atazanavir guided by therapeutic drug monitoring. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008, 24(6):821-825.

- **Morello J**, García Gascó P, Rodríguez-Novoa S, de Mendoza C, Blanco F, Gonzalez-Pardo G, Sanz B, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Association between tipranavir plasma levels and virological response in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008, 24:389-91.
- **Morello J**, Rodríguez-Nóvoa S, Cantillano AL, González-Pardo G, Jiménez I, Soriano V. Measurement of ribavirin plasma concentrations by high-performance liquid chromatography using a novel solid-phase extraction method in patients treated for chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit*. 2007 29(6):802-6.
- Soriano V, García-Gasco P, Vispo E, Ruiz-Sancho A, Blanco F, Martín-Carbonero L, Rodríguez-Novoa S, **Morello J**, de Mendoza C, Rivas P, Barreiro P, González-Lahoz J. Efficacy and safety of replacing lopinavir with atazanavir in HIV-infected patients with undetectable plasma viraemia: final results of the SLOAT trial. *J Antimicrob Chemother*. 2008, 61(1):200-5.77.
- de Mendoza C, **Morello J**, Garcia-Gasco P, Rodríguez-Novoa S, Soriano V. Tipranavir: a new protease inhibitor for the treatment of antiretroviral-experienced HIV-infected patients. *Expert Opin Pharmacother*. 2007, 8(6):839-50.
- **Morello J**, Rodríguez-Novoa S, Jimenez-Nacher I, Soriano V. Drug interactions for tipranavir, a new protease inhibitor. *Drug. Metabolism*. 2007, 1:81-84.

10 ABREVIATURAS

ABC: Área Bajo la Curva.

ADAR: del inglés, adenosine deaminase acting on RNA (adenosina desaminasa de ARN).

ADN: Ácido DesoxirriboNucleico.

ADNc: ADN complementario.

ADNccc: ADN circular covalentemente cerrado.

ALT: alanina aminotransferasa.

ARN: Ácido RiboNucleico.

ARNm: Ácido RiboNucleico mensajero.

ATP: del inglés, Adenosine 5'TriPhosphate (adenosina 5'trifosfato).

CNT: del inglés, Concentrative Nucleoside Transporter (transportador de nucleósidos concentrativo).

C_{valle}: concentración plasmática Valle.

Cl: aclaramiento.

Cl Cr: aclaramiento de creatinina.

EDTA: del inglés, Etilen-Diamine-Tetraacetic Acid (ácido etilendiaminotetracético).

EHT: Enfermedad Hepática Terminal.

EMA: del inglés, European Medicines Agency (agencia europea de medicamentos).

ENT: del inglés, Equilibrative Nucleoside Transporter (transportador de nucleósidos equilibrativo).

GGT: gamma glutamiltransferasa.

GTP: del inglés, Guanosine TriPhosphatase (guanosina trifosfatasa).

GWAS: del inglés, Genome Wide Association Studies (estudios de asociación de genoma completo).

HCC: del inglés, HepatoCellular Carcinoma (hepatocarcinoma).

HLA: del inglés, Human Leukocyte Antigen (antígeno leucocitario humano).

IFN: InterFerón.

IFNAR1: del inglés, IFN alpha receptor 1 (subunidad 1 del receptor del interferón alfa).

IFNAR2: del inglés, IFN alphas receptor 2 (subunidad 2 del receptor del interferón alfa).

IL: InterLeuquina.

IMP: del inglés, inosine monophosphate (inosina monofosfato).

IMPDH: del inglés, inosine monophosphate dehydrogenase (inosina monofosfato deshidrogenasa).

IQR: del inglés, interquartile range (rango intercuartílico).

IRES: del inglés, Internal Ribosome Entry Site (sitio interno de entrada al ribosoma).

IRF9: del inglés, Interferon Regulatory Factor 9 (factor regulador del interferón 9).

ISDR: del inglés, Interferon Sensitivity Determining Region (región determinante de la sensibilidad al interferón).

ISGs: del inglés, Interferon Stimulated Genes (genes estimulados por el interferón).

ISGF3: del inglés, Interferon Stimulated Genes Factor 3 (factor 3 de estimulación de los genes del interferón).

ISRE: del inglés, Interferon Stimulated Response Elements (elementos de respuesta a la estimulación por el interferón).

ITPA: del inglés, inosine triphosphatase (inosina trifosfatasa).

JAK1: del inglés, Janus Kinase 1 (Janus kinasa 1).

LDL: del inglés, Low Density Lipoprotein (lipoproteína de baja densidad).

MAPKAPK3: del inglés, p38 mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3 (proteína kinasa 3 activada por proteína kinasa 3 activada por mitógeno 38).

MCH: del inglés Major Histocompatibility Complex (complejo mayor de histocompatibilidad).

MCP: Monitorización de Concentraciones Plasmáticas.

MxA: del inglés, Myxovirus resistance 1 protein (proteína 1 de resistencia a myxovirus).

NCBI: National Center for Biotechnology Information (centro nacional de información biotecnológica).

NK: del inglés, Natural Killer.

NT: del inglés, Nucleoside Transporter (transportador de nucleósidos).

NBMPR: del inglés, 4-nitrobenzyl-mercaptopurine riboside (nitrobenziltioinosina).

OAS: del inglés, 2',5'-oligoadenylate synthetase (2',5'-oligoadenilato sintetasa).

OR: del inglés, odds ratio (razón de probabilidades).

PCR: del inglés, Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa).

pegIFN: interferón pegilado.

PKR: del inglés, dsRNA-dependent Protein Kinase (proteína kinasa dependiente de RNA).

RBV: ribavirina.

RBV-DP: del inglés, ribavirin-monophosphate (ribavirina monofosfato).

RBV-MP: del inglés, ribavirin-diphosphate (ribavirina difosfato).

RBV-TP: del inglés, ribavirin-triphosphate (ribavirina trifosfato).

RE: Retículo Endoplásmico.

RHV: Región HiperVariable.

ROC: del inglés, Receiver Operating Characteristic.

RT-PCR: del inglés, Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa).

RVR: Respuesta Viroológica Rápida.

RVS: Respuesta Viroológica Sostenida.

RVFT: Respuesta Viroológica al Final del Tratamiento.

RVT: Respuesta Viroológica Temprana.

SLC: del inglés, SoLute Carrier (transportador de soluto).

SNP: del inglés, Single Nucleotide Polymorphism (polimorfismo de nucleótido único).

SR-B1: del inglés, Scavenger Receptor – class B type 1 (receptor scanveger de clase B tipo 1).

STAT1: del inglés, Signal Transducers and Activators of Transcriptional factors (señal de transducción y activación de factores de transcripción 1).

STAT2: del inglés, Signal Transducers and Activators of Transcriptional factors (señal de transducción y activación de factores de transcripción 2)

TARGA: Terapia AntiRetroviral de Gran Actividad.

TNF: del inglés, Tumoral Necrosis Factor (factor de necrosis tumoral)

TGF: del inglés, Transforming Growth Factor (factor de crecimiento transformador).

TyK2: del inglés, Tyrosine Kinase 2 (tirosina kinasa 2).

$t_{1/2}$: tiempo de semivida de eliminación.

UTR: del inglés, UnTranslated Regions (regiones no traducidas flanqueantes).

Vd: volumen de distribución.

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

VHC: Virus de la Hepatitis C.